

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**GnRH ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ  
ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣ ΑΛΛΗΛΟΡΡΥΘΜΙΣΗΣ**

**ΠΟΥΣΙΑΣ ΣΕΡΑΦΕΙΜ  
ΙΑΤΡΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ  
Σεπτέμβριος 2011**

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ  
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: κ. Επίκουρος Καθηγητής Κωνσταντίνος Νταφόπουλος

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

κ. Καθηγητής Βαμβακόπουλος Νικόλαος

κ. Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τσέζου Ασπασία

κ. Επίκουρος Καθηγητής Νταφόπουλος Κωνσταντίνος

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	3
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣ ΑΛΛΗΛΟΡΡΥΘΜΙΣΗΣ.....	5
2.1 Γενικές αρχές.....	5
2.2 Μηχανισμοί παλίνδρομης αλληλορρύθμισης του άξονα υποθάλαμο-υπόφυση-ωοθήκης.....	8
2.2.1 Γενικά.....	8
2.2.2 Αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση.....	10
2.2.2.1 Αυτορρύθμιση της έκκρισης της GnRH.....	10
2.2.2.2 Επίδραση των ωοθηκικών στεροειδών στον άξονα υποθάλαμο-υπόφυση.....	11
2.2.2.3 Επίδραση των μη στεροειδών ορμονών της ωοθήκης στον άξονα υποθάλαμο-υπόφυση.....	15
2.2.2.4 Διακυκλική αύξηση της FSH.....	17
2.2.3 Θετική παλίνδρομη ρύθμιση.....	19
2.2.3.1 Μεσοκύκλιο κύμα της LH (εκκριτική αιχμή της LH).....	21
3. GnRH ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ.....	22
3.1 Γενικά.....	22
3.2 Δομή και δράση της GnRH.....	24
3.2.1 Δομή της GnRH.....	24
3.2.2 Δράση της GnRH.....	25
3.3 Δομή και δράση των GnRH ανταγωνιστών.....	26
3.3.1 Δομή των GnRH ανταγωνιστών.....	26
3.3.2 Δράση των GnRH ανταγωνιστών.....	27
3.4 Φαρμακοκινητικά και φαρμακοδυναμικά χαρακτηριστικά των GnRH ανταγωνιστών.....	30
3.5 Εφαρμογή των GnRH ανταγωνιστών στην ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών.....	31
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	37
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	38

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ως ομοιοστασία ορίζεται η διατήρηση αναλλοίωτου του άμεσου περιβάλλοντος του κυττάρου και αποτελεί την πρωταρχική προϋπόθεση για την διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας του. Οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί είναι πάρα πολλοί και λειτουργούν με το μηχανισμό της αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Ο μηχανισμός αρνητικής ανάδρασης (παλίνδρομης αλληλορρύθμισης) είναι ένα λειτουργικό κύκλωμα, όπου οποιαδήποτε απόκλιση από το φυσιολογικό επισημαίνεται με ειδικούς ανιχνευτές, τους αισθητικούς υποδοχείς, και η πληροφορία μεταφέρεται κατά κανόνα στο κεντρικό νευρικό σύστημα μέσω νεύρων. Από το σημείο αυτό στέλνονται σήματα-εντολές μέσω νεύρων ή με την βοήθεια ορμονών στην περιφέρεια και διορθώνεται η απόκλιση (1).

Η λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος, όπως και πολλά άλλα φυσιολογικά συστήματα στον ανθρώπινο οργανισμό, ρυθμίζεται από μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Ο μηχανισμός είναι συνήθως αρνητικός, αν και μερικοί θετικοί μηχανισμοί είναι γνωστοί. Οι δύο τύποι παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, θετικός και αρνητικός, λαμβάνουν χώρα επειδή το ενδοκρινικό κύτταρο, για να παράγει και να εκκρίνει στη συνέχεια το ορμονικό του παράγωγο, διαθέτει την ικανότητα να ανιχνεύει τις βιολογικές συνέπειες της έκκρισης της ορμόνης του. Αυτό του δίνει την δυνατότητα να μπορεί να ρυθμίζει το ενδοκρινικό κύτταρο τον ρυθμό έκκρισης της ορμόνης του, είτε αυξάνοντάς τον είτε μειώνοντάς τον, για να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα, διασφαλίζοντας την διατήρηση της ομοιοστασίας (2).

Σε ένα τέτοιο μηχανισμό ρύθμισης υπόκειται και το αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας. Η κύρια λειτουργία αυτού είναι η ωρίμανση και η ρήξη ενός ωοθυλακίου στην ωοθήκη. Συγκεκριμένα η ρήξη του ωοθυλακίου εξαρτάται από την εκδήλωση του μεσοκύκλιου κύματος της LH, η οποία προκαλείται λόγω της θετικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης που ασκούν τα εκκρινόμενα από το ωοθυλάκιο οιστρογόνα στον υποθάλαμο και στην υπόφυση. Τα τελευταία χρόνια έχουν ανακαλυφθεί ουσίες οι οποίες έχουν την ιδιότητα να καταστέλλουν την έκκριση των γοναδοτροφινών από την υπόφυση ανταγωνίζοντας τον φυσικό τους διεγέρτη, δηλαδή την GnRH, που εκκρίνεται από τον υποθάλαμο. Οι ουσίες αυτές ονομάζονται GnRH ανταγωνιστές και έχουν ευρεία εφαρμογή στην εξωσωματική γονιμοποίηση.

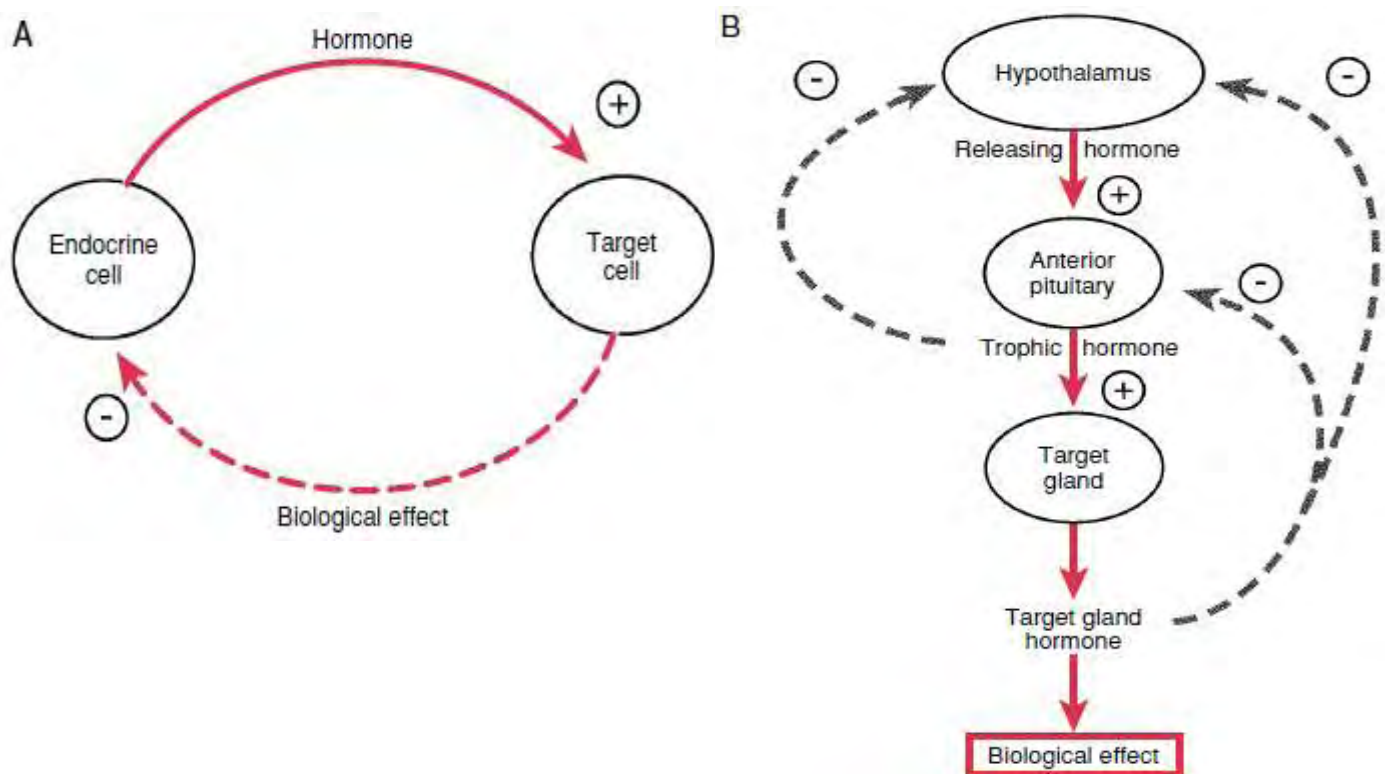
Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η ανάλυση των μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορρύθμισης καθώς επίσης και της ενδοκρινικής δράσης των GnRH ανταγωνιστών.

## **2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣ ΑΛΛΗΛΟΡΡΥΘΜΙΣΗΣ**

### **2.1 Γενικές αρχές**

Η ορμονική έκκριση μπορεί να ρυθμίζεται μέσω απλού παλίνδρομου κυκλώματος ή πολύπλοκου παλίνδρομου κυκλώματος. Η πρώτη περίπτωση είναι ο πιο απλός τύπος παλίνδρομης αλληλορρύθμισης και θέτει την βάση για τον σχηματισμό πιο πολύπλοκων κυκλωμάτων αλληλορρύθμισης, όπου ένα ενδοκρινικό κύτταρο εκκρίνει το ορμονικό του παράγωγο το οποίο προκαλεί ένα συγκεκριμένο βιολογικό αποτέλεσμα σε κάποιον ιστό. Όπως προαναφέρθηκε το κύτταρο αυτό ανιχνεύει το μέγεθος του αποτελέσματος για το οποίο είναι υπεύθυνη η ορμόνη που εκκρίνει οπότε καθώς αυξάνεται η βιολογική ανταπόκριση το ποσό της εκκρινόμενης ορμόνης από το ενδοκρινικό κύτταρο μειώνεται και αντιστρόφως (Εικόνα 1Α).

Πιο συχνά η παλίνδρομη αλληλορρύθμιση του ενδοκρινικού συστήματος ακολουθεί πολύπλοκα κυκλώματα. Για παράδειγμα πολλαπλά επίπεδα παλίνδρομης αλληλορρύθμισης συμμετέχουν για να ρυθμίσουν την παραγωγή και έκκριση ορμονών από ενδοκρινείς αδένες που υπόκεινται κάτω από τον έλεγχο της πρόσθιας υπόφυσης. Η ρύθμιση της έκκρισης ορμόνης από ένα ενδοκρινή αδέν-στόχο αρχίζει με την παραγωγή της εκλυτικής ορμόνης από τον υποθάλαμο. Η εκλυτική ορμόνη αυτή διεγείρει την παραγωγή και έκκριση τροφικής ορμόνης από την πρόσθια υπόφυση που αυτή με την σειρά της διεγείρει την έκκριση ορμόνης από τον ενδοκρινή αδέν-στόχο. Η ορμόνη του ενδοκρινή αδέν-στόχο μπορεί να αναστέλλει την έκκριση, μέσω αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, της εκλυτικής ορμόνης του υποθαλάμου και της τροφικής ορμόνης της υπόφυσης. Επιπροσθέτως η τροφική ορμόνη μπορεί να αναστείλει την εκλυτική ορμόνη του υποθαλάμου (Εικόνα 1Β).



Εικόνα 1. Απλό και πολύπλοκο κύκλωμα παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Α, απλό κύκλωμα παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Β, πολύπλοκο κύκλωμα παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (Lippincott Williams & Wikins, Medical Physiology, Daniel E. Peavy, Endocrine Physiology, Endocrine Control Mechanisms, chapter 31, 2004).

Τα πιο πολύπλοκα κυκλώματα παλίνδρομης αλληλορρύθμισης πλεονεκτούν έναντι των απλών. Θεωρητικώς επιτρέπουν σε μεγαλύτερο βαθμό την σωστή ρύθμιση της ορμονικής έκκρισης και τα πολλαπλά επίπεδα ρύθμισης της έκκρισης ελαχιστοποιούν τις μεταβολές στην ορμονική έκκριση σε περίπτωση που μια συνιστώσα του μηχανισμού δεν λειτουργεί φυσιολογικά (2).

Η λειτουργία του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-αδένας στόχος βασίζεται στους μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Η εκκριτική δραστηριότητα της αδενοϋπόφυσης βρίσκεται κάτω από δυαδικό έλεγχο, αφενός του κεντρικού νευρικού συστήματος και αφετέρου των ερεθισμάτων της περιφέρειας. Τα περιφερικά ερεθίσματα είναι κυρίως τα επίπεδα των ορμονών των αδένων στόχων, όπως επίσης και διάφορα μεταβολικά προϊόντα. Τα ερεθίσματα αυτά δρούν, τόσο στον υποθάλαμο επηρεάζοντας την έκκριση των υποθαλαμικών ορμονών, όσο, πιθανότατα, και στην υπόφυση μεταβάλλοντας την απαντητικότητα των κυττάρων της στις υποθαλαμικές νευροορμόνες.

Οι κύριοι μηχανισμοί που αναπτύσσονται είναι:

1. **Το σύστημα της μακράς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (long-feedback)**, όπου τα κέντρα ρύθμισης του κυκλώματος είναι αφενός μεν οι περιφερικοί αδένες, αφετέρου δε το υποθαλαμοϋποφυσιακό επίπεδο. Κύριος καθοριστικός παράγοντας είναι τα επίπεδα των ορμονών αδένων στόχων. Στο σύστημα αυτό υπάρχουν δύο εκφράσεις: α) ο μηχανισμός της **μακράς αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης (long negative feedback)**, όπου η επίδραση των επιπέδων των ορμονών των αδένων στόχων στα ανώτερα κέντρα προκαλεί **αντιστρόφως ανάλογη** ποσοτικά έκκριση των υποφυσιακών ορμονών και β) ο μηχανισμός της **μακράς θετικής παλίνδρομης (long positive feedback)** όπου η επίδραση των επιπέδων των ορμονών των αδένων στόχων προκαλεί ανάλογη ποσοτικά αύξηση των επιπέδων των υποφυσιακών ορμονών. Αυτή η σχέση παρατηρείται μόνο ανάμεσα στα οιστρογόνα και τις γοναδοτροφίνες και σ' αυτήν οφείλεται η αύξηση της έκκρισης των γοναδοτροφινών στο μέσο του αναπαραγωγικού κύκλου της γυναίκας, δηλαδή το φαινόμενο της ωορρηκτικής αιχμής των ορμονών αυτών.
2. **Το σύστημα του βραχέος κυκλώματος αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης (short negative feedback)**, όπου οι υποφυσιακές ορμόνες διαμέσου βραχέος κυκλώματος δρούν σε υποθαλαμικό επίπεδο ρυθμίζοντας κατά τρόπο αντιστρόφως ανάλογο την έκκριση των αντίστοιχων, για καθεμιά, υποθαλαμικών ορμονών.
3. **Το σύστημα του υπερβραχέος κυκλώματος αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης (ultrashort negative feedback)**, όπου το εκκριτικό ορμονικό προϊόν του υποθαλάμου ή της υπόφυσης αυτορρυθμίζει ποσοτικά αντίστροφα την περαιτέρω σύνθεσή του και απέκκρισή του μέσα στον ίδιο αδένα της παραγωγής του, την υπόφυση ή τον υποθάλαμο.

Συμπερασματικά η λειτουργικότητα της υπόφυσης διαμορφώνεται κάτω από την επίδραση πολλαπλών ερεθισμάτων όπως λ.χ. α) από το κεντρικό νευρικό σύστημα, με τους ενδογενείς ρυθμούς και την κατά ώσεις έκκριση, από τα εξωγενή ερεθίσματα και β) από την περιφέρεια με ερεθίσματα, όπως ορμόνες και προϊόντα μεταβολισμού (3).

## **2.2 Μηχανισμοί παλίνδρομης αλληλορρύθμισης του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκης**

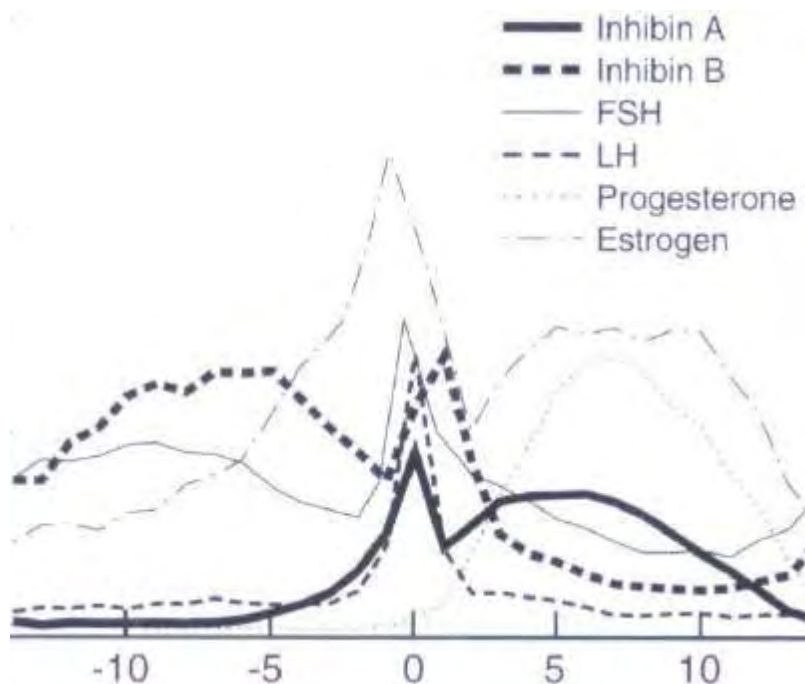
### **2.2.1 Γενικά**

Ο γεννητικός κύκλος έχει φυσιολογικά διάρκεια 28 ημέρες και διαιρείται σε δύο φάσεις. Κατά την πρώτη φάση, που ονομάζεται ωοθυλακική, πραγματοποιείται η ωρίμανση του ωοθυλακίου από το μέγεθος των 5mm στο μέγεθος των 20mm (ώριμο γραφιανό) μέσα σε 14 μέρες περίπου. Το ώριμο γραφιανό ωοθυλάκιο θα υποστεί ρήξη, μια διαδικασία η οποία ονομάζεται ωοθυλακιορρηξία. Η ωοθυλακιορρηξία σε κύκλο 28 ημερών συμβαίνει περίπου την 14<sup>η</sup> ημέρα, τουλάχιστον 36 ώρες μετά την έναρξη της εκκριτικής αιχμής της LH. Από το χρονικό αυτό σημείο, αρχίζει η δεύτερη φάση του κύκλου που ονομάζεται ωχρινική, στη διάρκεια της οποίας το ωχρό σωματίο, που σχηματίστηκε από το ωοθυλάκιο, εμφανίζει μεταβολές στη λειτουργία του, δηλαδή ακμή και γήρανση με επακόλουθο την έμμηνον ρύσιν (7).

Ο εμμηνορρυσιακός κύκλος ή αλλιώς γεννητικός κύκλος των γυναικών εξαρτάται κυρίως από αρνητικούς και θετικούς μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκη, η ένταση και η δραστηριότητα των οποίων μεταβάλλεται από την γέννηση μέχρι και την εμμηνόπαυση. Κατά την διάρκεια του γεννητικού κύκλου οι στεροειδείς και οι μη στεροειδείς ορμόνες που εκκρίνονται από την ωοθήκη είναι αυτές που επηρεάζουν τον άξονα υποθάλαμος-υπόφυση (4).

Περίληπτικά ο υποθάλαμος είναι υπεύθυνος για την έκκριση της νευροορμόνης GnRH, η οποία διεγείρει την έκκριση των γοναδοτροφινών, FSH και LH, από την υπόφυση, οι οποίες με την σειρά τους διεγείρουν την έκκριση των στεροειδών ορμονών, οιστρογόνα και προγεστερόνη, και των μη στεροειδών ορμονών, ανασταλίνη, ακτιβίνη και φολλιστατίνη, από τις ωοθήκες (5). (Εικόνα 2)





Εικόνα 2. Μεταβολές των υποφυσιικών και ωοθηκικών ορμονών στην κυκλοφορία της γυναίκας στη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου. Ως σημείο αναφοράς έχει ληφθεί η εκκριτική αιχμή της LH (Kumanov P, Nandipati KC, Tomova A, Robeva R, Agarwal A. Significance of inhibin in reproductive pathophysiology and current clinical applications. Reprod Biomed Online. 2005 Jun;10(6):786-812. Review).

Η GnRH εκκρίνεται κατά ώσεις κάθε 70-90 λεπτά από τον υποθάλαμο (6), ενώ η έκκριση των γοναδοτροφινών εμφανίζει τρεις τύπους: α) την τονική ή βασική έκκριση (πρόκειται για συνεχή έκκριση γοναδοτροφινών, ο βαθμός της οποίας ρυθμίζεται από την αρνητική επίδραση των στεροειδών), β) την κυκλική έκκριση (αφορά στην κατά το μέσον του γεννητικού κύκλου παρατηρούμενη εκκριτική αιχμή των γοναδοτροφινών, λόγω της θετικής επίδρασης των οιστρογόνων) και γ) την κατά ώσεις ή επεισοδιακή έκκριση (γίνεται ανά 1 – 2 ώρες ανεξάρτητα αν υπάρχει τονική ή κυκλική έκκριση και θεωρείται αποτέλεσμα αντίστοιχων ώσεων της GnRH). Ο τύπος των ώσεων επηρεάζεται από την έκκριση των ωοθηκικών στεροειδών. Έτσι, σε υπογοναδικές ασθενείς, υπάρχει μεγάλο εύρος και μεγάλη συχνότητα ώσεων. Το ίδιο παρατηρείται παρουσία οιστρογόνων, ενώ η προγεστερόνη παρουσία οιστρογόνων ελαττώνει την συχνότητα και αυξάνει το εύρος των ώσεων (7).

### **2.2.2 Αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση**

Πριν την εφηβεία λόγω έντονης ευαισθησίας του υποθαλάμου στα πολύ χαμηλά κυκλοφορούντα οιστρογόνα οι γοναδοτροφίνες εκκρίνονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Με την προσέγγιση της ήβης, η ευαισθησία του υποθαλάμου στα οιστρογόνα ελαττώνεται και η έκκριση της GnRH και των γοναδοτροφινών αυξάνει. Με την εγκατάσταση της κυκλικής ωοθηκικής λειτουργίας, ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης εμφανίζει αυξομειούμενη ένταση ανάλογα με το επίπεδο των κυκλοφορούντων στεροειδών, ενώ μετά την εμμηνόπαυση ο μηχανισμός αυτός εξασθενεί σημαντικά. Προς το τέλος της ήβης αναπτύσσεται και ο θετικός μηχανισμός των ωοθηκικών στεροειδών (7).

#### **2.2.2.1 Αυτορρύθμιση της έκκρισης της GnRH**

Οι GnRH νευρώνες του υποθαλάμου είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή και την κατά ώσεις έκκριση της GnRH νευροορμόνης. Η κατά ώσεις έκκριση της GnRH είναι απαραίτητη για την γονιμότητα γιατί συνεχή χορήγηση της GnRH προκαλεί απευαισθητοποίηση της υποφύσεως, αφού πρώτα την διεγείρει, με αποτέλεσμα την καταστολή της έκκρισης των γοναδοτροφινών με επακόλουθο την υπογονιμότητα. Στα θηλυκά θηλαστικά, οι μεταβολές στη συχνότητα των εκκριτικών ώσεων της GnRH ευνοούν την έκκριση της FSH ή της LH σε συγκεκριμένες περιόδους κατά την διάρκεια του γεννητικού κύκλου, δημιουργώντας ένα κατάλληλο ορμονικό περιβάλλον για την ανάπτυξη ωοθυλακίου από την ωοθήκη και την εξέλιξη του γεννητικού κύκλου. Υψηλής συχνότητας εκκριτικές ώσεις της GnRH ευνοούν τη σύνθεση και έκκριση της LH, ενώ χαμηλής συχνότητας εκκριτικών ώσεων της GnRH ευνοεί την σύνθεση και έκκριση της FSH.

Η GnRH νευροορμόνη μπορεί από μόνη της να ρυθμίσει την λειτουργία των GnRH νευρώνων. Χορήγηση της GnRH στις κοιλίες του εγκεφάλου μπορεί να μεταβάλλει τα επίπεδα της LH στο πλάσμα με ένα δοσο-εξαρτώμενο τρόπο, όπου χαμηλές δόσεις της GnRH αναστέλλουν την έκκριση της LH και υψηλές δόσεις της GnRH έχουν διεγερτική δράση. Επιπροσθέτως, i.v. έγχυση ανταγωνιστή έναντι του GnRH υποδοχέα αυξάνει την έκκριση της GnRH κατά την διάρκεια της ωχρινικής φάσης στα πρόβατα, όταν χαμηλής συχνότητας ώσεις της GnRH επικρατούν. Χαμηλές δόσεις της GnRH μειώνουν την δράση των GnRH νευρώνων στα ποντίκια,

ενώ υψηλές δόσεις της GnRH διεγείρουν την έκκριση των GnRH νευρώνων, το οποίο θα ήταν σύμφωνο με την ικανότητα της GnRH να σχηματίζει ένα υπερβραχί κύκλωμα αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (ultrashort-loop feedback), όπου θα μειώνει ή θα διεγείρει την δράση των GnRH νευρώνων κατά την διάρκεια του αρνητικού ή του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, αντιστοίχως. Έχει βρεθεί ότι μια ενδιάμεση δόση της GnRH υπερπολώνει τους GnRH νευρώνες στα ποντίκια, ενώ χαμηλή δόση της GnRH σε αρσενικά ποντίκια μειώνει την GABA μεταγωγή σήματος στους GnRH νευρώνες. Τέλος έχει αναφερθεί η GnRH εκπολώνει τους GnRH νευρώνες σε τμήματα εγκεφάλου από θηλυκά ποντίκια. Εν κατακλείδι χρειάζονται περισσότερες έρευνες για να μελετηθεί ο μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης μεταξύ της GnRH και των GnRH νευρώνων (8).

#### ***2.2.2.2 Επίδραση των ωοθηκικών στεροειδών στον άξονα υποθάλαμο-υπόφυση***

Κατά την ωοθυλακική φάση αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει την ικανότητα των εξωγενώς χορηγηθέντων οιστρογόνων να καταστέλλουν την FSH και την LH. Είχε ειπωθεί ότι και οι δύο γοναδοτροφίνες είναι το ίδιο ευαίσθητες στην καταστολή που προκαλείται από τα οιστρογόνα. Όμως αποτελέσματα μελέτης, όπου τεχνητά δημιουργήθηκαν δύο προσομοιώσεις ωοθυλακικών φάσεων και μιας ωχρινικής ενδιάμεσά τους σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χορηγώντας του εξωγενώς οιστρογόνα και προγεστερόνη, έδειξε ότι α) η έκκριση της FSH και της LH ελέγχεται διαφορετικά από τις ωοθήκες, όπως επίσης και β) ότι η έκκριση της FSH δεν επηρεάζεται μόνο από τα οιστρογόνα και την προγεστερόνη αλλά και από άλλους παράγοντες που εκκρίνονται από την ωοθήκη.

Στην συγκεκριμένη μελέτη αυτά τα συμπεράσματα προήλθαν από τις εξής παρατηρήσεις: Καθώς η συγκέντρωση των στεροειδών αυξάνονταν στον ορό οι συγκεντρώσεις των FSH και LH μειώνονταν. Κατά το τέλος της τεχνητής ωχρινικής φάσης τα επίπεδα της LH ήταν χαμηλότερα από τα αντίστοιχα επίπεδα φυσιολογικών προεμμηνοπαυσιακών γυναικών, αλλά της FSH ήταν υψηλότερα από τα αντίστοιχα της φυσιολογικής πρώιμης ωοθυλακικής φάσης του γεννητικού κύκλου. Αυτό υποδεικνύει την συμμετοχή και μη στεροειδή παράγοντά, που εκκρίνεται από την ωοθήκη, στην ρύθμιση της έκκρισης της FSH. Κατά την διάρκεια της δεύτερης τεχνητής ωοθυλακικής φάσης τα επίπεδα της FSH παρέμεναν χαμηλά ενώ της LH

σταδιακά αυξάνονταν παρά τις αυξημένες συγκεντρώσεις των οιστρογόνων, που υποδεικνύει τον διαφορικού έλεγχο της έκκρισης των FSH και LH από την ωοθήκη (9).

Η αδυναμία των επιπέδων των οιστρογόνων κατά την ωοθυλακική φάση να διατηρήσουν χαμηλά τα επίπεδα της LH παρουσία μη λειτουργικών ωοθηκών υποδεικνύει ότι κατά την διάρκεια φυσιολογικής ωοθυλακικής φάσης αυτό το στεροειδές δεν είναι ο μόνος μεσολαβητής της αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης στην έκκριση της LH. Είναι πιθανόν ότι και η ενδογενής προγεστερόνη να συμμετέχει, επειδή στην παραπάνω μελέτη οι συγκεντρώσεις της προγεστερόνης στον ορό ήταν χαμηλότερες στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε σύγκριση με την φυσιολογική ωοθυλακική φάση (9). Επιπροσθέτως χορήγηση σε φυσιολογικές γυναίκες μifeπριστόνη, μια αντιπρογεστερονική ουσία, κατά την διάρκεια της πρώιμης και μέσης ωοθυλακικής φάσης είχε σαν αποτέλεσμα σημαντική αύξηση των επιπέδων της LH (4). (Πίνακας 1)

Η προγεστερόνη παράγεται φυσιολογικά από τα ωχρινοποιημένα κοκκώδη κύτταρα και από τα ωχρινικά κύτταρα. Η προέλευσή της κατά την διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης δεν έχει διευκρινιστεί, αλλά σε μελέτη όπου διενεργήθηκε ωοθηκεκτομή στην μέση ωοθυλακική φάση έδειξε ότι τα επίπεδα της προγεστερόνης μειώθηκαν σημαντικά., υποδεικνύοντας ότι οι ωοθήκες παράγουν προγεστερόνη και στην ωοθυλακική φάση. Στην ίδια μελέτη όπως και σε πολλές άλλες τα επίπεδα των οιστρογόνων μειώθηκαν, ενώ τα επίπεδα των FSH και LH σταδιακά αυξήθηκαν μετά την ωοθηκεκτομή, αποδεικνύοντας ότι τα ωοθηκικά στεροειδή διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της έκκρισης των γοναδοτροφινών (4). Τέλος έχει αποδειχθεί ότι κατά την διέγερση των ωοθηκών με FSH τα επίπεδα της LH μειώνονται ραγδαία καθώς τα επίπεδα των οιστρογόνων αυξάνονται. Υπάρχουν τουλάχιστον δύο μελέτες, όπου υποδεικνύουν ότι για αυτή την πτώση της LH ευθύνονται τα οιστρογόνα (4). (Πίνακας 1)

Μελέτη σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, όπου τους χορηγήθηκε GnRH ανταγωνιστής και δόσεις GnRH για να απομονώσουν την ανταπόκριση της υπόφυσης στην πριν και μετά χορήγηση των οιστρογόνων (10), υποδεικνύει ότι τα οιστρογόνα δρούν άμεσα στην υπόφυση, μέσω αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, μεταβάλλοντας την ανταπόκριση των FSH και LH στην GnRH. Η δράση των οιστρογόνων στην ανταπόκριση της FSH ήταν μεγαλύτερη από ότι στην ανταπόκριση της LH και εξασθενεί με την γήρανση. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν

ότι τα οιστρογόνα δρουν απευθείας στην υπόφυση μέσω μηχανισμού αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης και συμβάλουν στη διαφορική ρύθμιση της έκκρισης των FSH και LH (10).

Στην ωχρινική φάση οι αυξημένες συγκεντρώσεις της προγεστερόνης και των οιστρογόνων παίζουν σημαντικό ρόλο στο να διατηρούν σε χαμηλά επίπεδα την FSH και την LH. Πειράματα σε γυναίκες που είχαν υποστεί ωθηκεκτομή στη μέση ωχρινική φάση έδειξαν ότι τα επίπεδα των οιστρογόνων και της προγεστερόνης μειώθηκαν σημαντικά τις πρώτες 24 ώρες, ενώ των FSH και LH αυξήθηκαν σταδιακά. Αν και αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν τον ρόλο των στεροειδών ορμονών, δεν ξεχωρίζουν τον τρόπο δράσης της καθεμίας. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η προγεστερόνη και τα οιστρογόνα δρουν συνεργικά μέσω αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης στην έκκριση των γοναδοτροφινών στη διάρκεια της ωχρινικής φάσης (4). (Πίνακας 1)

Πρόσφατα σε μια μελέτη (11) που έγινε σε LβT2 γοναδοτρόφα κύτταρα αποδείχθηκε ότι η προγεστερόνη μειώνει την έκφραση της β-υπομονάδας της LH και διεγείρει αντιθέτως την έκφραση της β-υπομονάδας της FSH. Η από την προγεστερόνη καταστολή της βασικής και της προκαλούμενης από την GnRH έκφραση του LHβ γονιδίου πραγματοποιείται από έναν ορμόνη-υποδοχέα εξαρτώμενο τρόπο. Η προγεστερόνη δεσμεύεται στον υποδοχέα της PR και στη συνέχεια το σύμπλοκο αυτό αλληλεπιδρά με τον υποκινητή του LHβ γονιδίου στα ποντίκια είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω μεταγραφικών παραγόντων (11).

Στην ωχρινική φάση του γεννητικού κύκλου η συχνότητα των ώσεων της έκκρισης της GnRH μειώνεται σε αντίθεση με το εύρος που αυξάνεται. Αν και αυτό μπορεί να οφείλεται στα αυξημένα επίπεδα της προγεστερόνης, φαίνεται ότι και τα δύο στεροειδή, οιστρογόνα και προγεστερόνη, συμβάλουν. Η κατασταλτική δράση των δύο στεροειδών ορμονών στην έκκριση των γοναδοτροφινών πιθανότατα διαμεσολαβείται μέσω της αύξησης της β-ενδορφίνης στον υποθάλαμο (4). Τα στεροειδή του φύλου επάγουν την δράση των ενδογενών οπιοειδών, τα οποία με την σειρά τους αναστέλλουν την έκκριση της GnRH (12). Η αρνητική αυτή δράση των οπιοειδών είναι επίσης βιολογικά πιθανή, γιατί η μειωμένη έκκριση της GnRH στην υποθαλαμική αμηνόρροια πιθανόν να διαμεσολαβείται από έναν αυξημένο ενδογενή οπιοειδή ρυθμό (12).

Για το μεγαλύτερο διάστημα του γεννητικού κύκλου τα οιστρογόνα δρουν μέσω αρνητικού παλίνδρομου μηχανισμού για να μειώσουν το εύρος των ώσεων της

GnRH, όπως επίσης και στα γοναδοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης για να καταστείλουν την έκκριση της LH. Τα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων αυξάνονται κατά την διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης, όπου στο τέλος αυτής τα οιστρογόνα σε υψηλές συγκεντρώσεις έχουν διττή δράση στην έκκριση της GnRH, όπου η μείωση του εύρους των ώσεων της GnRH και η καταστολή της έκκρισης της LH συνοδεύονται από έναν υψηλό παλμό έκκρισης της GnRH συνοδευόμενη από την εκκριτική αιχμή της LH. Παρά την σημαντικότητα αυτής της αλλαγής της δράσης των οιστρογόνων από αρνητικό σε θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, ο μηχανισμός ακόμα δεν είναι πλήρως κατανοητός.

Οι πιθανές περιοχές όπου τα οιστρογόνα δρουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα και επηρεάζουν την έκκριση της GnRH είναι ο υπερχιασματικός πυρήνας, ο περικοιλιακός προοπτικός πυρήνας και οι GnRH νευρώνες (8). Τα οιστρογόνα μπορούν να ρυθμίσουν την έκκριση των GnRH νευρώνων μέσω:

A. Άμεσης ρύθμισης των GnRH νευρώνων χρησιμοποιώντας οιστρογονικούς υποδοχείς ERα και ERβ, που είναι πυρηνικοί υποδοχείς (γονιδιακή ρύθμιση) (13), ή, όπως υποδεικνύουν τα νεότερα δεδομένα, χρησιμοποιώντας και μεμβρανικούς υποδοχείς (μη γονιδιακή ρύθμιση) (14).

B. Νευρομεταβιβαστών, όπως η ντοπανίνη, τα διεγερτικά αμινοξέα (γλουταμικό οξύ/ασπαρτικό οξύ), το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), το νευροπεπτίδιο Υ, η νευροτενσίνη, η νορεπινεφρίνη, τα οπιοειδή (13) και η κισσπεπτίνη (14).

Γ. Γλοιακών κυττάρων (13).

Στους νευροενδοκρινικούς ιστούς η προγεστερόνη δρά με μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης στην έκκριση της GnRH. Η αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση της προγεστερόνης στο γυναικείο αναπαραγωγικό άξονα ασκείται εν μέρει καταστέλλοντας την έκκριση της GnRH. Η πλειοψηφία των δράσεων αυτού του στεροειδούς πραγματοποιούνται μέσω της δέσμευσής του σε κυτταροπλασματικούς ή σε πυρηνικούς υποδοχείς. Επιπροσθέτως νεότερα δεδομένα αποκαλύπτουν ότι η προγεστερόνη μπορεί να αναστείλει την έκκριση της GnRH μέσω ενός μηχανισμού, που είναι ανεξάρτητος από τους πυρηνικούς υποδοχείς PRA PRB της προγεστερόνης (15). Σε μια πρόσφατη μελέτη η χορήγηση προγεστερόνης σε PR knockout ποντίκια, που είχαν υποστεί ωοθηκεκτομή, κατέστειλε τα επίπεδα της LH, όπως επίσης κατέστειλε και την έκκριση της GnRH από τα GT1-7 κύτταρα (15).

### **2.2.2.3 Επίδραση των μη στεροειδών ορμονών της ωοθήκης στον άξονα υποθάλαμο-υπόφυση**

Οι μη στεροειδείς ορμόνες που εκκρίνονται από την ωοθήκη είναι η ανασταλτίνη (ινχιμπίνη), η ακτιβίνη, η φολλιστατίνη, η αντιμυλλέριος ορμόνη (AMH) και ο παράγοντας άμβλυνσης του κύματος των γοναδοτροφινών (GnSAF) (4). Η ινχιμπίνη είναι μια ετεροδιμερής γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από α- και β-υπομονάδες. Ανήκει στην οικογένεια του αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού β (TGF-β). Υπάρχουν δύο τύποι της β-υπομονάδας η β<sub>A</sub> και η β<sub>B</sub>. Το σύμπλοκο αβ<sub>A</sub> ονομάζεται ινχιμπίνη Α και το σύμπλοκο αβ<sub>B</sub> ινχιμπίνη Β. Η ακτιβίνη είναι διμερές παράγωγο των β-υπομονάδων της ινχιμπίνης. Η ακτιβίνη Α αποτελείται από τις β<sub>A</sub>β<sub>A</sub> υπομονάδες, η ακτιβίνη Β από τις β<sub>B</sub>β<sub>B</sub> και η ακτιβίνη ΑΒ από τις β<sub>A</sub>β<sub>A</sub> (16).

Εξ' ορισμού η ινχιμπίνη αναστέλλει την έκκριση της FSH. Τα επίπεδα της ινχιμπίνης Β είναι αυξημένα από την αρχή μέχρι την μέση ωοθυλακική φάση, υποδεικνύοντας ότι παράγεται από το ωριμάζον ωοθυλάκιο. Αντιθέτως τα επίπεδα της ινχιμπίνης Α είναι χαμηλά κατά την ωοθυλακική φάση και αυξάνουν στην ωχρινική, υποδεικνύοντας ότι παράγεται από το ωχρο σώματιο. Σε μελέτες στα ζώα έχει αποδειχθεί ότι συγκεκριμένη πρωτεΐνη έχει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών. Χορήγηση αντι-ορού ινχιμπίνης σε ποντίκια είχε σαν αποτέλεσμα αύξηση του FSH-β mRNA χωρίς να επηρεαστεί η LH-β. Επιπλέον χορήγηση ανασυνδυασμένης ινχιμπίνης Α σε ποντίκια κατέστειλε το κύμα της FSH και τα επίπεδα της FSH στο πλάσμα μειώθηκαν.

Μελέτες σε ανθρώπους μόνο εμμέσως αποδεικνύουν ότι η ινχιμπίνη συμμετέχει στον έλεγχο της έκκρισης της FSH. Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες τα αυξημένα επίπεδα της FSH μειώνονται κατά την διάρκεια θεραπείας με οιστρογόνα, αλλά παραμένουν υψηλότερα από αυτά των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών πιθανολογώντας ότι η ινχιμπίνη πιθανόν να λείπει σε αυτές τις γυναίκες. Σε μια μελέτη που χορηγήθηκε κίτρικη κλομιφαΐνη, μια αντι-οιστρογόνως ουσία, για 15 μέρες κατά την διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης, τα επίπεδα της LH παρέμεναν υψηλά καθ' όλη την διάρκεια της θεραπείας, ενώ τα επίπεδα της FSH μετά από μια αρχική αύξηση μειώθηκαν στην συνέχεια. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με την υπόθεση ότι στον έλεγχο της έκκρισης της FSH συμμετέχουν και μη στεροειδείς παράγοντες και πιθανότατα η ινχιμπίνη (4). Σε μελέτες όπου προεμμηνοπαυσιακές υπέστησαν ωοθηκεκτομή κατά την ωοθυλακική φάση ή την

ωχρινική φάση έδειξαν ότι στην πρώτη περίπτωση μειώθηκαν τα επίπεδα και της ινχιμπίνης A και της B και στην δεύτερη περίπτωση μειώθηκαν τα επίπεδα μόνο της ινχιμπίνης A. Τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνουν ότι η ινχιμπίνη B παράγεται στην ωοθυλακική φάση και η ινχιμπίνη A στην ωχρινική.

Έχει διαπιστωθεί ότι οι περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχουν αυξημένα επίπεδα FSH και μειωμένα επίπεδα ινχιμπίνης B σε σύγκριση με νεότερες γυναίκες. Επίσης γυναίκες με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια, αλλά με ωοθυλακιορρηκτικούς κύκλους, έχουν αυξημένα επίπεδα FSH και μειωμένα επίπεδα ινχιμπίνης A και B. Τα παραπάνω δεδομένα υποδεικνύουν ότι η ινχιμπίνη παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της έκκρισης της FSH και κυρίως η ινχιμπίνη B στην ωοθυλακική φάση (Πίνακας 1).

Δεν υπάρχουν δεδομένα για τον μηχανισμό δράσης της ινχιμπίνης στις γυναίκες παρά μόνο σε ζώα. Έχει προταθεί ότι η ινχιμπίνη δρα κατευθείαν στην υπόφυση και ότι μπορεί να μειώσει την προκαλούμενη από την GnRH έκκριση της FSH (4). Νεότερες μελέτες έχουν δείξει ότι η ινχιμπίνη μπορεί να δεσμεύεται στον υποδοχέα της ακτιβίνης (ACT RII) στην υπόφυση και να αναστέλλει την έκκριση των γοναδοτροφινών (16).

Ο ρόλος της ακτιβίνης είναι λιγότερο εξακριβωμένος. Δεδομένα σε ζώα έχουν δείξει ότι η ακτιβίνη διεγείρει την έκκριση της FSH από την υπόφυση. Σε γυναίκες όπου μετρήθηκε η ακτιβίνη A, κατά την διάρκεια του γεννητικού τους κύκλου, βρέθηκαν διακυμάνσεις των επιπέδων της με υψηλότερες συγκεντρώσεις κατά την αρχή της ωοθυλακικής φάσης, στο μέσο του γεννητικού κύκλου και στο τέλος της ωχρινικής φάσης (4). Η ακτιβίνη δεσμεύεται στο υποδοχέα της (ACT RII) στα γοναδοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης και διεγείρει την έκκριση της FSH και της LH. Δεδομένα υποδεικνύουν ότι η ακτιβίνη φαίνεται να διεγείρει την έκκριση της GnRH από τον υποθάλαμο (16).

Η φολλιστατίνη αρχικώς θεωρούταν αγωνιστής της ινχιμπίνης, αλλά στη συνέχεια βρέθηκε ότι είναι δεσμευτική πρωτεΐνη της ακτιβίνης. Δεδομένα όμως σε ζώα, που τους χορηγήθηκε φολλιστατίνη, βρέθηκε ότι τα επίπεδα της FSH μειώθηκαν.

Εν τούτοις η ύπαρξη των υπομονάδων της ινχιμπίνης, της ακτιβίνης και της φολλιστατίνης στα υποφυσιακά κύτταρα αρκετών ειδών ζώων υποδεικνύει ότι αυτές οι πρωτεΐνες πιθανόν να δρουν και μέσω αυτοκρινών/παρακρινών μηχανισμών.



Ο ρόλος της AMH δεν έχει διευκρινιστεί. Η AMH εκκρίνεται από τα κοκκώδη κύτταρα των αρχέγονων μέχρι το στάδιο των 4-6mm κοιλοτικών ωοθυλακίων. Αν και φαίνεται ότι την 3<sup>η</sup> ημέρα του γεννητικού κύκλου φυσιολογικών γυναικών τα επίπεδα της AMH μειώνονται και ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση με την FSH, ο ρόλος της στον μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης δεν έχει εξακριβωθεί.

Ο GnSAF παράγεται κυρίως από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια υπό την επίδραση της FSH. Μειώνει κυρίως την έκκριση της LH παρά της FSH. Έχει προταθεί ότι εξασθενεί, αμβλύνει, το ενδογενές κύμα της LH. Μελέτες σε γυναίκες έχουν δείξει ότι παράγεται κατά την μετάβαση του τέλους της ωχρινικής φάσης ενός κύκλου και της έναρξης της ωοθυλακικής φάσης του επόμενου υπό την επίδραση της διακυκλικής αύξησης της FSH. Έχει αναπτυχθεί η υπόθεση ότι ο GnSAF στην αρχή μέχρι την μέση της ωοθυλακικής φάσης έχει έντονη δραστηριότητα και μειώνει την ανταπόκριση της υπόφυσης στην GnRH. Όμως στο τέλος της ωοθυλακικής φάσης η βιοδραστηριότητα του GnSAF μειώνεται, διευκολύνοντας την από τα οιστρογόνα ευαισθητοποίηση της υπόφυσης στην GnRH. Με βάση αυτή την υπόθεση ο ρόλος του GnSAF, στους ανθρώπους, είναι να ελέγχει το εύρος του κύματος της LH και όχι την έναρξή του. Εν κατακλείδι φαίνεται λοιπόν ότι τα οιστρογόνα ευαισθητοποιούν τα γοναδοτρόφα κύτταρα στην GnRH, ενώ ο GnSAF ανταγωνίζεται την ευαισθητοποίηση αυτή (4).

#### **2.2.2.4 Διακυκλική αύξηση της FSH**

Κατά την μετάβαση από την ωχρινική φάση ενός γεννητικού κύκλου στην ωοθυλακική φάση του επόμενου παρατηρείται αύξηση των επιπέδων της FSH. Η FSH αρχίζει να αυξάνεται 2-3 ημέρες πριν την έναρξη της εμμήνου ρύσεως και παραμένει αυξημένη μέχρι την αρχή της ωοθυλακικής φάσης, όπου αρχίζει να μειώνεται στα βασικά της επίπεδα στην μέση ωοθυλακική φάση. Η αύξηση αυτή ονομάζεται και παράθυρο της FSH κατά την διάρκεια της οποίας γίνεται η επιλογή του κυριαρχούντος ωοθυλακίου.

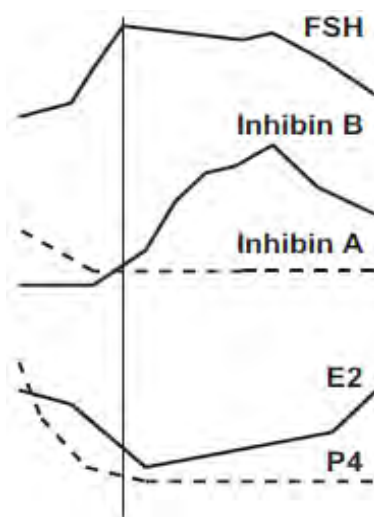
Η διακυκλική αύξηση της FSH ελέγχεται από ωοθηκικούς παράγοντες. Πριν την έναρξη της αύξησης της FSH τα επίπεδα της ινχιπίνης A, της προγεστερόνης και των οιστρογόνων αρχίζουν να μειώνονται. Επομένως εικάζεται ότι η αύξηση της FSH αρχίζει στο τέλος της ωχρινικής φάσης ως αποτέλεσμα της μειωμένης δράσης του

αρνητικού μηχανισμού στην έκκριση της FSH. Η ινχιμπίνη Β δεν συμμετέχει σε αυτόν το μηχανισμό. Όμως καθώς η παραμένει αυξημένη η FSH στην ωοθυλακική φάση, η ινχιμπίνη Β αρχίζει σταδιακά να αυξάνεται. Είναι πιθανό τα αυξανόμενα επίπεδα της ινχιμπίνης Β, κάτω από την επίδραση της FSH, να αναστέλλουν την έκκριση της FSH και κατ' επέκταση να περιορίζουν το παράθυρο της FSH.

Όπως προαναφέρθηκε κατά την διάρκεια της διακυκλικής αύξησης της FSH επιλέγεται το κυρίαρχο ωοθυλάκιο. Τα επίπεδα των οιστρογόνων αρχίζουν να αυξάνονται από την αρχή της ωοθυλακικής φάσης και μέσω αρνητικού παλίνδρομου μηχανισμού μειώνουν τα επίπεδα της FSH. Τα οιστρογόνα έχουν πιο σημαντικό ρόλο στο τερματισμό του παραθύρου της FSH απ' ό,τι η ινχιμπίνη.

Η προγεστερόνη μπορεί να συμμετέχει στην διακυκλική αύξηση της FSH μέσω δράσης στην έκκριση της GnRH. Η προγεστερόνη στην ωχρινική φάση μειώνει την συχνότητα και αυξάνει το εύρος των εκκριτικών ώσεων της GnRH. Μείωση των επιπέδων της στο τέλος της ωχρινικής φάσης αυξάνει την συχνότητα των εκκριτικών ώσεων της GnRH, γεγονός που ευνοεί την έκκριση της FSH. (Εικόνα 3)

Τέλος η ακτιβίνη Α αρχίζει να αυξάνεται στην μέση ωχρινική φάση πριν την διακυκλική αύξηση της FSH, γεγονός που καθιστά πιθανό την συμμετοχή της στην διακυκλική αύξηση της FSH (4). (Πίνακας 1)



Εικόνα 3. Ωοθηκικές ορμόνες που συμμετέχουν στην έναρξη και λήξη της διακυκλικής αύξησης της FSH (Messinis IE. Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications. Hum Reprod Update. 2006 Sep-Oct;12(5):557-71. Epub 2006 May 3. Review).

Follicular phase		Luteal phase		Luteal-follicular transition (intercycle rise of FSH)	
FSH	LH	FSH	LH	Onset	Termination
	Estradiol	Estradiol	Estradiol	Removal of negative action of:	Estradiol
Inhibin B	Progesterone	Progesterone	Progesterone	Inhibin A	Inhibin B
				Positive action of:	
				Activin A	

Πίνακας 1. Οι ωοθηκικές ορμόνες που συμμετέχουν στον αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης της έκκρισης των γοναδοτροφινών (Messinis IE. Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications. Hum Reprod Update. 2006 Sep-Oct;12(5):557-71. Epub 2006 May 3. Review).

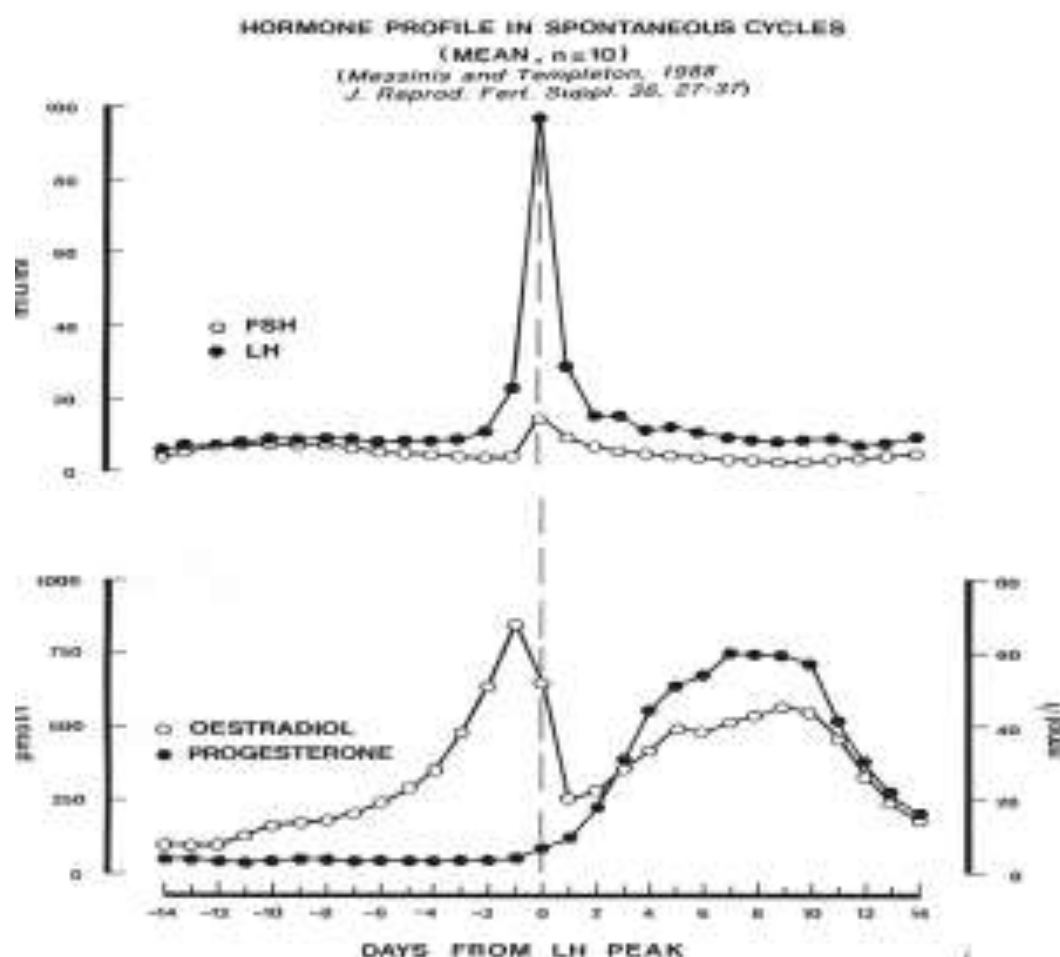
### 2.2.3 Θετική παλίνδρομη ρύθμιση

Είναι γνωστό ότι τα οιστρογόνα προκαλούν θετική παλίνδρομη αλληλορρύθμιση στον άξονα υποθάλαμο-υπόφυση (Εικόνα 4). Ευαισθητοποιούν την υπόφυση στην GnRH και προάγουν το αυτοεπαγωγικό φαινόμενο της GnRH, δηλαδή την ικανότητα της GnRH να ευαισθητοποιεί την υπόφυση στην ίδια την GnRH. Η αποθήκευση των γοναδοτροφινών στα γοναδοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης γίνεται με την μορφή δύο δεξαμενών. Οι δύο αυτές δεξαμενές είναι η λεγόμενη ‘πρώτη δεξαμενή ή άμεσα ελευθερώσιμη’, που αντιπροσωπεύει την ευαισθησία της υπόφυσης στην GnRH και η ‘δεύτερη δεξαμενή’, που παριστά τις εφεδρείες των γοναδοτρόφων κυττάρων στις γοναδοτροφίνες. Από την πρώτη δεξαμενή εκκρίνονται οι γοναδοτροφίνες αμέσως μετά την επίδραση της GnRH και από την δεύτερη δεξαμενή οι γοναδοτροφίνες μετατρέπονται σε ελευθερώσιμη μορφή μετά από παρατεταμένη δράση (7).

Σε ενδοφλέβια χορήγηση δύο δόσεων GnRH 10μg με διαφορά 2 ωρών, σε φυσιολογικές γυναίκες, παρατηρείται ότι η ανταπόκριση της υπόφυσης στην δεύτερη δόση είναι μεγαλύτερη. Αυτό το φαινόμενο είναι ευδιάκριτο παρουσία οιστρογόνων και ονομάζεται αυτοεπαγωγικό φαινόμενο της GnRH. Αν και αυτό υποδεικνύει ότι οι υποδοχείς της GnRH στα γοναδοτρόφα κύτταρα αυξάνονται με την κατά ώσεις έκκριση της GnRH, μπορεί να συσχετίζεται και με την αυξημένη διαθεσιμότητα της GnRH στην υπόφυση αφού τα οιστρογόνα αναστέλλουν τον μεταβολισμό της GnRH σε υποφυσιακά κύτταρα πιθήκων και ποντικών. Επιπροσθέτως δεδομένα από ποντίκια έδειξαν ότι η GnRH ελέγχει την βιοσύνθεση της LH αυξάνοντας την

γλυκοζυλίωση και την σύνθεση του πολυπεπτιδίου της LH και τα οιστρογόνα διευκολύνουν την έκκριση της LH με το να μειώνουν την απαιτούμενη ποσότητα GnRH που χρειάζεται για να διεγερθούν οι δύο προηγούμενες διαδικασίες.

Πειράματα με GnRH σε γυναίκες απέδειξαν ότι η ευαισθησία της υπόφυσης και οι εφεδρείες της, όπως και το αυτοεπαγωγικό φαινόμενο αυξάνονταν στο τέλος της ωοθυλακικής φάσης. Αυτό υποδεικνύει ότι στην αρχή και στην μέση της ωοθυλακικής φάσης η ευαισθησία της υπόφυσης, η οποία προκαλείται από τα οιστρογόνα, αναστέλλεται από έναν παράγοντα. Πιθανότατα αυτός ο παράγοντας είναι ο GnSAF. Η προγεστερόνη κατά την διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης, αν και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, πιθανότατα συμμετέχει στην ευαισθητοποίηση της υπόφυσης και με αυτόν τον τρόπο μπορεί να διευκολύνει τον θετικό μηχανισμό παλίνδρομης ρύθμισης των οιστρογόνων.



Εικόνα 4. Θετικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης των οιστρογόνων στον άξονα υποθάλαμο-υπόφυση στο μέσο του γεννητικού κύκλου. Ως σημείο αναφοράς έχει ληφθεί η εκκριτική αιχμή της LH

### **2.2.3.1 Μεσοκύκλιο κύμα της LH (εκκριτική αιχμή της LH)**

Τα οιστρογόνα είναι ο κύριος παράγοντας που προκαλεί την εκκριτική αιχμή της LH (κύμα LH) στο μέσο του γεννητικού κύκλου. Απαραίτητες προϋποθέσεις είναι τα επίπεδα των οιστρογόνων να είναι πάνω από 200pg/ml για τουλάχιστον 48 ώρες (Εικόνα 4). Ακόμη εξωγενής χορήγηση οιστρογόνων μπορούν να προκαλέσουν την εκκριτική αιχμή της LH. Τα επίπεδα της προγεστερόνης αυξάνουν κατά την περιωοθυλακιωρηκτική περίοδο. Το ενδεχόμενο να συμβάλει και η προγεστερόνη στο θετικό μηχανισμό παλίνδρομης ρύθμισης είναι πιθανό, μέσω δράσης της στους προγεστερονικούς υποδοχείς.

Οι περιοχές δράσεις των οιστρογόνων για τον θετικό μηχανισμό παλίνδρομης ρύθμισης είναι ο υποθάλαμος και η υπόφυση. Ένα προωοθυλακιωρηκτικό κύμα της GnRH έχει παρατηρηθεί στις προβατίνες, ενώ έχει προκληθεί κύμα LH χορηγώντας οιστρογόνα σε πιθήκους στους οποίους δεν υπήρχε ενδογενής παραγωγή GnRH (4). Σε γοναδοτρόφα κύτταρα ποντικών η έκκριση της LH σε απάντηση στην GnRH αυξάνεται μετά από 12ωρη έκθεση στα οιστρογόνα. Ο μηχανισμός της δράσης των οιστρογόνων συμπεριλαμβάνει την προαγωγή του αυτοεπαγωγικού φαινομένου της GnRH και την αύξηση τόσο της ποσότητας LH που εκκρίνεται από κάθε κύτταρο όσο και τον αριθμό των κυττάρων που εκκρίνουν LH (5). Επομένως είναι πολύ πιθανόν η υπόφυση να είναι η πρωταρχική περιοχή δράσης του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης ρύθμισης και η GnRH να έχει συνεργιστική δράση. Η προγεστερόνη φαίνεται να συμμετέχει στο θετικό μηχανισμό παλίνδρομης ρύθμισης μέσω δράση της στον υποθάλαμο.

Ο θετικός μηχανισμός δράσης των οιστρογόνων στις γοναδοτροφίνες γίνεται μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων (ER). Εάν συμμετέχει μόνο ο ERα ή μόνο ο ERβ ή και οι δύο δεν είναι ξεκάθαρο. Τέλος η δράση των οιστρογόνων μεσολαβείται και μέσω αλλαγών στην δράση νευροδιαβιβαστών, όπως της β-ενδορφίνης, τα επίπεδα της οποίας στο πλάσμα αρχίζουν να αυξάνονται 2 μέρες πριν το κύμα της LH (4).

Η εκκριτική αιχμή της LH διαρκεί 48-72 ώρες. Μετά την έναρξη του κύματος της LH τα επίπεδα των οιστρογόνων αρχίζουν να μειώνονται. Η προγεστερόνη αρχίζει να αυξάνεται σταδιακά από την έναρξη μέχρι τον τερματισμό του κύματος της LH και παραμένει αυξημένη κατά την διάρκεια της ωχρινικής φάσης. Είναι πιθανό αυτή η αύξηση της προγεστερόνης να είναι συμβάλει στον τερματισμό του

κύματος της LH (4). Δεδομένα από μελέτη υποδεικνύουν ότι ο τερματισμός του κύματος της LH, που προκλήθηκε από τα οιστρογόνα, δεν σχετίζεται με εξάντληση των εφεδρειών των γοναδοτρόφων κυττάρων, αλλά ελέγχεται από παράγοντες που εκκρίνονται από την ωοθήκη, με το πιο πιθανό παράγοντα να είναι η προγεστερόνη (17). Η μείωση της συχνότητας των ώσεων της έκκρισης της GnRH κατά το τέλος του κύματος της LH μπορεί να είναι ένα μέρος του μηχανισμού παλίνδρομης δράσης της προγεστερόνης στην έκκριση των γοναδοτροφινών (4).

### **3. GnRH ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**

#### **3.1 Γενικά**

Η εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) περιλαμβάνει την ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών, για να προκληθεί ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Τα σκευάσματα των γοναδοτροφινών, που χρησιμοποιούνται για να διεγείρουν τις ωοθήκες να παράγουν ωοθυλάκια, είναι γοναδοτροφίνες από μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (hMG) ή η ανασυνδυασμένη FSH (rhFSH). Η ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροφίνη (hCG) χρησιμοποιείται για να προκαλέσει την τελική ωρίμανση του ωαρίου, δηλαδή να ολοκληρώσει την πρώτη μειωτική του διαίρεση, ή για να πραγματοποιηθεί ωοθυλακιορρηξία στους κύκλους θεραπείας, αν αυτό απαιτείται.

Ακύρωση των κύκλων ενδέχεται να πραγματοποιηθεί σε περιπτώσεις πτωχής ή υπερβολικής ανταπόκρισης των ωοθηκών στις γοναδοτροφίνες. Επίσης η πρόωπη εκκριτική αιχμή της LH, μπορεί να οδηγήσει σε ακύρωση του κύκλου θεραπείας (18). Η πρόωπη εκκριτική αιχμή της LH προκαλείται από τον πρόωρο θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης των οιστρογόνων, που αυξάνονται κατά την διέγερση των ωοθηκών πιο γρήγορα και σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με τον φυσιολογικό γεννητικό κύκλο, εξαιτίας της ωρίμανσης περισσότερων από ένα ωοθυλακίων σε αντίθεση με τον φυσιολογικό γεννητικό κύκλο που ωριμάζει ένα μόνο ωοθυλάκιο.

Η πρόωπη εκκριτική αιχμή της LH διακόπτει την ωρίμανση των ωοθυλακίων έχοντας σαν αποτέλεσμα να επηρεάζεται αρνητικά η ποιότητα των ωαρίων, καθώς επίσης και η υποδεκτικότητα του ενδομητρίου, η γονιμοποίηση και τελικώς τα ποσοστά των κυήσεων (19). Είναι γεγονός ότι υψηλά επίπεδα της LH, ιδιαιτέρως

στην ωοθυλακική φάση, έχουν αρνητική επίδραση στην έκβαση της IVF π.χ. μειωμένα ποσοστά γονιμοποίησης και κύησης, αυξημένα ποσοστά αυτόματης έκτρωσης (18). Επομένως η απευαισθητοποίηση της υπόφυσης αποτελεί αναγκαιότητα για την πρόληψη της ακυρώσεως των κύκλων θεραπείας ή το μειωμένο αποτέλεσμά τους και την πρόληψη των πρώιμων αιχμών της LH.

Συνεχής χορήγηση GnRH προκαλεί απευαισθητοποίηση της υπόφυσης, αφού αρχικώς προκαλέσει διέγερσή της, μέσω μείωσης των αριθμών των υποδοχέων της GnRH στα γοναδοτρόφα κύτταρα, με αποτέλεσμα την μείωση της έκκρισης των γοναδοτροφινών από αυτά. Ωστόσο ο χρόνος ημιζωής της GnRH είναι 2-5 λεπτά και αποικοδομείται από ενδοπεπτιδάσες (19). Στα τέλη του 1980 εισήχθησαν οι GnRH αγωνιστές (GnRH-a) στην IVF (18), όπου λόγω του μεγάλου χρόνου ημιζωής τους (1-6 ώρες) και της μεγάλης δεσμευτικής τους ικανότητας στον GnRH υποδοχέα (20), μπορούσαν να προκαλέσουν επιτυχώς απευαισθητοποίηση της υπόφυσης (19). Αποτέλεσμα ήταν να μειωθούν τα ποσοστά των πρώιμων εκκριτικών αιχμών της LH από το 40%, που ήταν αρχικώς (21), να μειωθούν τα ποσοστά ακυρώσεως των κύκλων από 20% σε 2% και να αυξηθούν τα ποσοστά της κύησης (18).

Πριν οι GnRH αγωνιστές απευαισθητοποιήσουν την υπόφυση την διεγείρουν τις 2-3 πρώτες μέρες να εκκρίνει γοναδοτροφίνες. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται flare up effect. Επίσης η διάρκεια χορήγησης των GnRH αγωνιστών που χρειάζεται για να απευαισθητοποιηθεί η υπόφυση είναι περίπου δύο εβδομάδες (20). Η υπόφυση ξεκινά να εκκρίνει πάλι γοναδοτροφίνες μετά από δύο εβδομάδες από την διακοπή της χορήγησής τους, ενώ πλήρη αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας πραγματοποιείται μετά από έξι εβδομάδες (22). Αποτέλεσμα των παραπάνω ήταν κατά την διάρκεια του flare up effect να δημιουργούταν κύστεις στις ωοθήκες και λόγω της μεγάλης διάρκειας της απευαισθητοποίησης της υπόφυσης, οπότε έλλειψης παραγωγής οιστρογόνων από τις ωοθήκες, να παρατηρούνται εξάνθεις, πονοκέφαλοι, μητρορραγίες, ξηρότητα του κόλπου, ζαλάδες και κόπωση στις γυναίκες (23, 24).

Το 2001 όμως εισήχθησαν στην IVF οι GnRH ανταγωνιστές (Ganirelix, Cetrorelix) (25), που έχουν την ικανότητα να δεσμεύονται στον υποδοχέα της GnRH, χωρίς να τον ενεργοποιούν, ανταγωνίζοντας την ενδογενή GnRH. Η δράση τους αυτή έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της έκκρισης των γοναδοτροφινών, χωρίς το αρχικό flare up effect ή την προαπαιτούμενη μακρά περίοδο χορήγησης των GnRH αγωνιστών για να επιτευχθεί η απευαισθητοποίηση της υπόφυσης, και την σύντομη περίοδο ανάκαμψης της υπόφυσης 2-4 ημέρες μετά την διακοπή τους (21). Οι

ανταγωνιστές χορηγούνται υποδορίως και κυκλοφορούν σε ενέσιμη μορφή των 0.25mg για τους Cetrorelix και Ganirelix και σε 3mg για τον Cetrorelix (19).

## 3.2 Δομή και δράση της GnRH

### 3.2.1 Δομή της GnRH

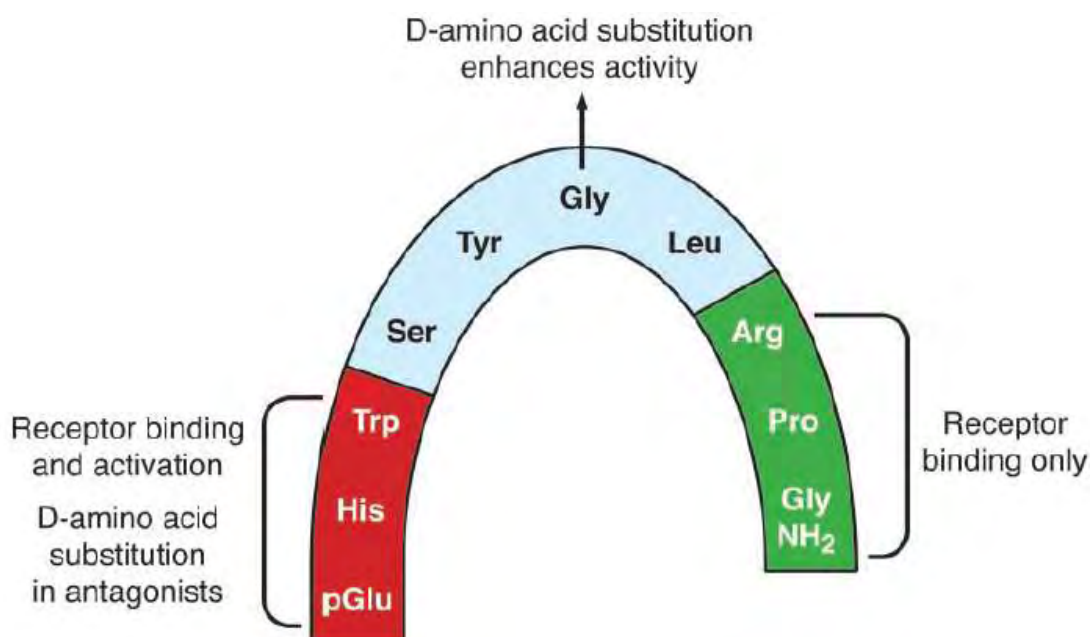
Η GnRH νευροορμόνη είναι ένα δεκαπεπτίδιο (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly.NH<sub>2</sub>) που απομονώθηκε το 1971 από τους Andrew Victor Schally και R. C. L. Guillemin (Εικόνα 6). Στον άνθρωπο υπάρχουν δύο τύποι GnRH, με διαφορετική δράση ο κάθε ένας, ο GnRH type I και ο GnRH type II, όπου τα γονίδιά τους εδράζονται στα χρωμοσώματα 8 και 20 αντιστοίχως. Η GnRH type I είναι η κλασσική νευροορμόνη του αναπαραγωγικού συστήματος που δεσμεύεται στον GnRH type I υποδοχέα, ο οποίος ανήκει στην οικογένεια των G-πρωτεϊνικών διαμεμβρανικών υποδοχέων, των γοναδοτρόφων κυττάρων και προκαλεί την έκκριση των γοναδοτροφινών. Πιθανότατα και η GnRH type II δεσμεύεται στον ίδιο υποδοχέα, αφού GnRH type II υποδοχέας στον άνθρωπο δεν έχει απομονωθεί (26, 27).

Το αμινο-τελικό (pGlu-His-Trp-Ser) και το καρβοξυ-τελικό (Pro-Gly.NH<sub>2</sub>) τμήμα της GnRH είναι υπεύθυνα για την δέσμευσή της στον υποδοχέα της (28). Συγκεκριμένα τα αμινοξέα που πιθανολογείται ότι συμμετέχουν είναι τα Glu, His, Arg και Gly στις θέσεις 1, 2, 8 και 10 αντιστοίχως (29). Επιπροσθέτως το αμινο-τελικό της τμήμα είναι υπεύθυνο για την ενεργοποίηση του υποδοχέα και αντικαταστάσεις σε αυτή την περιοχή έχουν σαν αποτέλεσμα την παραγωγή GnRH ανταγωνιστών (28). Η Arg στην θέση 8 της δομής της GnRH φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της β-II αναδίπλωσης της στερεοδιάταξής της, αφού αντικατάσταση αυτού του καταλοίπου έχει σαν αποτέλεσμα μια πιο εκτεταμένη δομή χωρίς δεσμευτική ικανότητα (27, 28). Αντικατάσταση της Gly στην θέση 6 με D-αμινοξύ ενισχύει την β-II αναδίπλωση, αυξάνει την βιοδραστικότητα της GnRH κατά δέκα φορές και αυξάνει το χρόνο ημιζωής της, υπερνικώντας τις επιβλαβείς επιδράσεις της αντικατάστασης της Arg στη θέση 8. (Εικόνα 5)

GnRH mRNA έχει βρεθεί και σε περιοχές πέρα από την υπόφυση, όπως τον πλακούντα, το μυομήτριο, το ενδομήτριο και την ωοθήκη. Τα παραπάνω υποδεικνύουν ότι η GnRH μπορεί να έχει αυτοκρινική/παρακρινική δράση.



Επιπροσθέτως mRNA του υποδοχέα της GnRH έχει βρεθεί στην ωοθήκη, στο μαστό, στο ενδομήτριο, στο μυομήτριο, στον πλακούντα, στο προστάτη, στους όρχεις και σε διάφορους καρκίνους των ιστών αυτών και των σειρών κυττάρων τους (26).



Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση της GnRH νευροορμόνης. Αντικατάσταση του κατάλοιπου (Gly) στην θέση έξι με ένα D-αμινοξύ έχει σαν συνέπεια την αύξηση της βιοδραστικότητας της GnRH, ενώ αντικαταστάσεις στο αμινο-τελικό τμήμα της έχουν σαν αποτέλεσμα την παραγωγή GnRH ανταγωνιστών. Το αμινο-τελικό και το καρβοξυ-τελικό τμήμα της GnRH είναι υπεύθυνα για την δέσμευσή της στον υποδοχέα της, ενώ το αμινο-τελικό τμήμα της είναι υπεύθυνο για την ενεργοποίησή του (Millar RP, Lu ZL, Pawson AJ, Flanagan CA, Morgan K, Maudsley SR. Gonadotropin-releasing hormone receptors. Endocr Rev. 2004 Apr;25(2):235-75. Review).

### 3.2.2 Δράση της GnRH

Η δέσμευση της GnRH στον υποδοχέα της, στα γοναδοτρόφα κύτταρα, ενεργοποιεί την G πρωτεΐνη της α-υπομονάδας του G υποδοχέα, G<sub>q</sub>, που οδηγεί στην ενεργοποίηση των φωσφολιπασών C και D, οποίες με την σειρά του οδηγούν στην αύξηση της διακυλ-γλυκερόλης (DAG) και της τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP<sub>3</sub>). Η τριφωσφορική ινοσιτόλη οδηγεί στην παραγωγή κυκλικού AMP και κινητοποιεί το ασβέστιο από τις ενδοκυττάρειες αποθήκες, ενώ παράλληλα ασβέστιο εισέρχεται μέσα στο κύτταρο μέσω ειδικών διαύλων που ενεργοποιούνται. Το ασβέστιο, στην συνέχεια, μαζί με την διακυλ-γλυκερόλη ενεργοποιούν την πρωτεϊνική κινάση C, η

οποία φαίνεται να παίζει μεσολαβητικό ρόλο στην βιοσύνθεση των γοναδοτροφινών. Η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κίνησης C οδηγεί στην ενεργοποίηση MAPK κινασών. Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι η βιοσύνθεση και έκκριση των γοναδοτροφινών από τα γοναδοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης. Για να προκληθεί 80% βιολογική απάντηση απαιτείται να δεσμευτούν μόνο το 5% του αριθμού των υποδοχέων (26, 30).

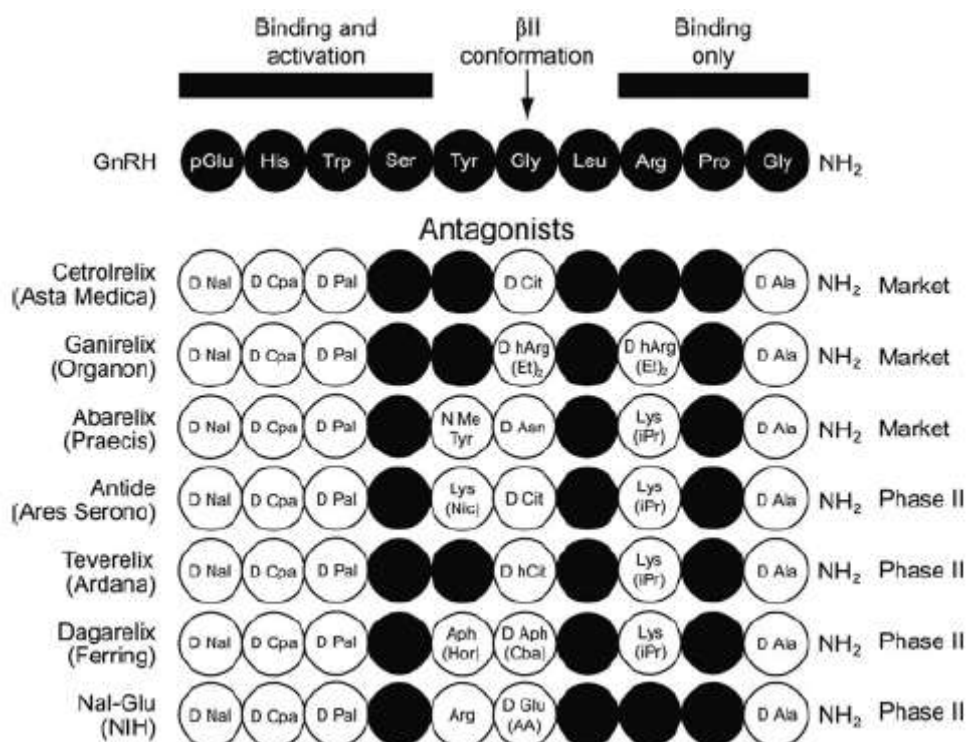
### **3.3 Δομή και δράση των GnRH ανταγωνιστών**

#### **3.3.1 Δομή των GnRH ανταγωνιστών**

Η πρώτη γενιά των GnRH ανταγωνιστών κατασκευάστηκε πάνω από 25 χρόνια πριν (19). Τα κατάλοιπα των αμινοξέων, τα οποία αντικαταστάθηκαν ήταν η His και η Trp στις θέσεις 2 και 3 αντιστοίχως. Η ικανότητά τους όμως να καταστείλουν την έκκριση των γοναδοτροφινών ήταν πολύ περιορισμένη. Αυτό οδήγησε στην αντικατάσταση και της Gly στην θέση 6 με ένα D-αμινοξύ και στην κατασκευή της δεύτερης γενιάς των GnRH ανταγωνιστών, όπου είχαν αυξημένη κατασταλτική ικανότητα (26). Μείζον όμως μειονέκτημα της δεύτερης γενιάς των GnRH ανταγωνιστών ήταν ότι προκαλούσαν αποσύνθεση των μαστοκυττάρων και έκκριση ισταμίνης με αποτέλεσμα την εκδήλωση αλλεργικών αντιδράσεων, που κυμαίνονταν από τοπικό οίδημα και σκλήρυνση μέχρι την εκδήλωση αναφυλακτικής αντίδρασης (20).

Στην τρίτη γενιά των GnRH ανταγωνιστών οι αλλεργικές παρενέργειες ελαχιστοποιήθηκαν με την αντικατάσταση του κατάλοιπου D-Arg στην θέση 6 με D-ουρεϊδοαλκυλο αμινοξέα. Η τρίτη γενιά των GnRH ανταγωνιστών περιλαμβάνει τους Ganirelix, Cetrorelix, Iturelix, Azaline B, Antarelix, Nal-Glu, Antide, Abarelix, Teverelix και τον Degarelix (26), που περιλαμβάνουν αντικαταστάσεις αμινοξέων στις θέσεις 1, 2, 3, 5, 6, 8 και 10 με διάφορους συνδυασμούς (18, 26, 31). (Εικόνα 6)

Την τελευταία δεκαετία άρχισαν να κατασκευάζονται οι μη-πεπτιδικοί GnRH ανταγωνιστές. Η πρώτη δημοσίευση των μη-πεπτιδικών αυτών αναλόγων αφορούσε την κετοκοναζόλη, που είχε την ικανότητα να δεσμεύεται και να μπλοκάρει τον GnRH υποδοχέα της υπόφυσης στα ποντίκια. Από τότε μέχρι σήμερα έχει σημειωθεί μεγάλη πρόοδος και πλέον βρίσκονται στο στάδιο των κλινικών μελετών (31, 35).

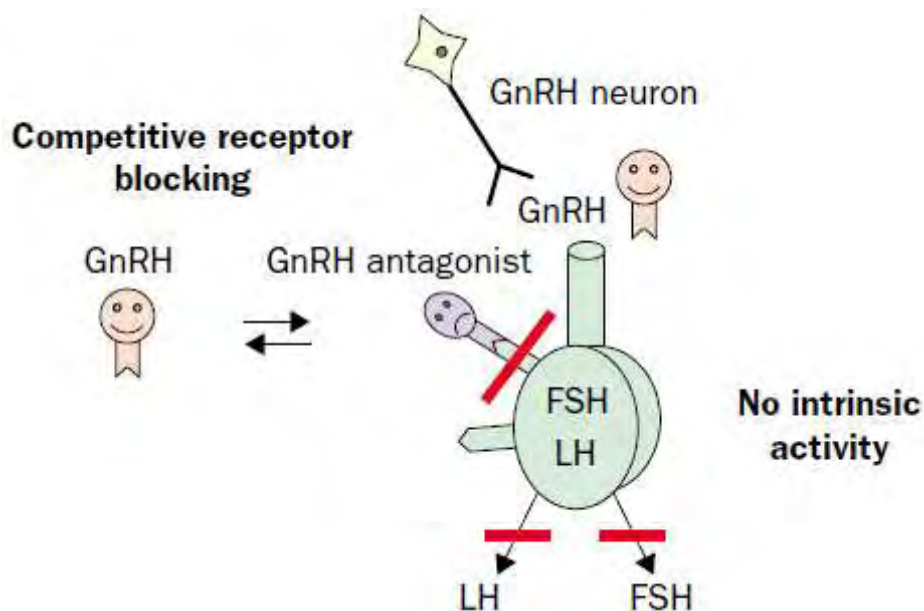


Εικόνα 6. Δομή των GnRH ανταγωνιστών σε σύγκριση με την GnRH (Tarlatzis BC, Fauser BC, Kolibianakis EM, Diedrich K, Rombauts L, Devroey P. GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF. Hum Reprod Update. 2006 Jul-Aug;12(4):333-40. Epub 2006 Mar 27. Review. Erratum in: Hum Reprod Update. 2006 Nov-Dec;12(6):797. Rombauts, L [added]).

### 3.3.2 Δράση των GnRH των ανταγωνιστών

Ο GnRH ανταγωνιστής δεσμεύεται στον GnRH υποδοχέα, μπλοκάροντάς τον, ανταγωνίζοντας την ενδογενή GnRH, προκαλώντας μείωση της έκκρισης των γοναδοτροφινών και των επιπέδων τους στον ορό σε διάστημα 8 ωρών. Η αναστολή της έκκρισης της LH είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με της FSH, πιθανότατα λόγω της διαφορετικής ρύθμισης της έκκρισης των γοναδοτροφινών, του μεγαλύτερου χρόνου ημιζωής της FSH ή των ανοσοδραστικών και βιοδραστικών μορφών της FSH. Παρόλα αυτά η υπόφυση διατηρεί την ανταπόκρισή της στην GnRH μετά από θεραπεία με GnRH ανταγωνιστή. Επιπροσθέτως λειτουργία της υπόφυσης ανακτάται αμέσως μετά την διακοπή της χορήγησης των GnRH ανταγωνιστών. Η ανασταλτική δράση των GnRH ανταγωνιστών είναι δοσο-εξαρτώμενη και σχετίζεται με την

ισορροπία που υπάρχει μεταξύ των συγκεντρώσεων της ενδογενούς GnRH και του GnRH ανταγωνιστή (18, 24). Ο GnRH ανταγωνιστής δεν ενεργοποιεί τον GnRH υποδοχέα οπότε δεν παρατηρείται flare up effect, όπως συμβαίνει όταν χορηγείται GnRH αγωνιστής (19). (Εικόνα 7)



Εικόνα 7. Δράση των GnRH ανταγωνιστών (Huirne JA, Lambalk CB. Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. Lancet. 2001 Nov 24;358(9295):1793-803. Review).

Νεότερα δεδομένα υποδεικνύουν ότι οι GnRH ανταγωνιστές δρουν ως αγωνιστές σε μερικά ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια. Συγκεκριμένα ενεργοποιούν την Gi και αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση σε περιφερικούς αναπαραγωγικούς ιστούς (η Gi, όπως και η Gq, είναι α-υπομονάδες των G-πρωτεϊνικών υποδοχέων, οι οποίες ενεργοποιούν το ενδοκυτταρικό σηματοδοτικό μονοπάτι) (31). Επίσης νεότερες μελέτες απέδειξαν ότι η θεραπεία με GnRH ανταγωνιστή συσχετίζεται με αυξημένη αποθήκευση των γοναδοτροφινών στην υπόφυση (αύξηση των FSH-β και LH-β, χωρίς να συνοδεύεται από αλλαγές των mRNA επιπέδων) και αξιοσημείωτες μειώσεις του mRNA του GnRH υποδοχέα και του αριθμού των GnRH υποδοχέων. Ο παραμένων όμως αριθμός των GnRH υποδοχέων και η λειτουργία τους ήταν επαρκής για να εκδηλωθεί κύμα της LH όταν χορηγήθηκε GnRH αγωνιστής (32).

Η χορήγηση GnRH ανταγωνιστών δεν έχει αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη του ενδομητρίου. Σε μελέτη 31 δότριες ωαρίων έλαβαν ανασυνδυασμένη FSH και

Ganirelix για να εκτιμηθούν οι επιδράσεις της καθιερωμένης (0.25mg) και υψηλής (0.5mg) δόσης του GnRH ανταγωνιστή, έναντι της επίδρασης του GnRH αγωνιστή μπουσερελίνη (0.6mg/ημέρα) σε μακρύ πρωτόκολλο. Ως αναφορά για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η αξιολόγηση της ανάπτυξης του ενδομητρίου ενός υποσυνόλου ασθενών που εντάχθηκαν στην μελέτη κατά την διάρκεια ενός προηγούμενου φυσικού κύκλου χωρίς διέγερση. Πραγματοποιήθηκαν βιοψίες του ενδομητρίου κατά την ωχρινική φάση, την 2<sup>η</sup> και 7<sup>η</sup> ημέρα μετά την ωρίμανση του ωαρίου με hCG. Δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στο πάχος ή στην μορφολογία του ενδομητρίου, βάσει υπερηχογραφήματος, σε γυναίκες που έλαβαν την καθιερωμένη ή υψηλή δόση του Ganirelix. Ομοίως η έκφραση υποδοχέων (οιστρογόνων, προγεστερόνης) και η δομή της επιφάνειας του ενδομητρίου στους ιστούς που ελήφθησαν με βιοψία δεν φαίνεται να επηρεάστηκαν από την καθιερωμένη και την υψηλή δόση του Ganirelix. Η ανάπτυξη του ενδομητρίου μετά από θεραπεία με τον GnRH ανταγωνιστή προσέγγιζε περισσότερο την ανάπτυξη του φυσιολογικού ενδομητρίου από ότι μετά από θεραπεία με τον GnRH αγωνιστή (33).

Μελέτες *in vitro* σε ανθρώπινα κοκκώδη κύτταρα υποδεικνύουν ότι ούτε ο Ganirelix αλλά ούτε και ο Cetorelix έχουν σημαντική επίδραση στην στερεοειδογένεση των ωοθηκών (34). Επιπροσθέτως το πρότυπο ωρίμανσης των ωοθυλακίων και η ποιότητα των ωαρίων δεν επηρεάζεται από την δόση των GnRH ανταγωνιστών (24, 25). Μελέτη όπου έλαβαν μέρος 62 ασθενείς εξετάστηκε το ενδεχόμενο της επίδρασης των ανταγωνιστών στην ποιότητα των ωαρίων και του εμβρύων συγκρίνοντας τα ποσοστά εμφύτευσης και κύησης των μετά από κρυοσυντήρηση ωαρίων, στο στάδιο των προπυρήνων και του εμβρύου, που λήφθηκαν μετά από ελεγχόμενη διέγερση ωοθηκών με hMG και Cetorelix με αυτά της ελεγχόμενης διέγερσης των ωοθηκών με hMG και GnRH αγωνιστή. Τα ποσοστά εμφύτευσης και κύησης δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά στην θεραπεία με Cetorelix και GnRH αγωνιστή (20, 24). Επιπροσθέτως σε μελέτη, όπου πραγματοποιήθηκε ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών και χρησιμοποιήθηκε ο Cetorelix, δεν ανιχνεύτηκε στο ωοθυλακικό υγρό ο Cetorelix όταν χρησιμοποιούνταν σε μικρές δόσεις (0.1mg και 0.5mg) (21). Επίσης μελέτη υπέδειξε ότι και ο Ganirelix δεν επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα των ωαρίων και των εμβρύων (20).

Αν και οι GnRH ανταγωνιστές χρησιμοποιούνται ευρέως στην IVF περισσότερες μελέτες θα πρέπει να διεξαχθούν για να εξακριβωθούν με ακρίβεια οι

επιδράσεις που μπορεί να έχουν στην υπόφυση, στην ωοθήκη, στο ενδομήτριο, στο ωχρό σωματίο και στο έμβρυο.

Τα τελευταία χρόνια στο στάδιο των κλινικών μελετών βρίσκονται οι μη-πεπτιδικοί GnRH ανταγωνιστές. Αυτά τα ανάλογα λειτουργούν ως ανταγωνιστές της Gq και δεν ενεργοποιούν την Gi. Ένα από αυτά τα ανάλογα (TAK-013) έχει την ικανότητα να καταστέλλει την LH, αλλά όχι την FSH, όταν χορηγείται για 80 ημέρες (31).

### **3.4 Φαρμακοκινητικά και φαρμακοδυναμικά χαρακτηριστικά των GnRH ανταγωνιστών**

Ο Cetrorelix είναι διαθέσιμος για κλινική χρήση στις δόσεις των 0.25mg και 3mg και χορηγείται υποδορίως. Ο μέσος χρόνος ημιζωής του είναι 20 ώρες και 63 ώρες για τις δόσεις 0.25mg και 3mg αντίστοιχα. Η βιοδιαθεσιμότητά του είναι 85%. Μετά από μία χορήγηση 3mg του Cetrorelix προκαλείται μια ταχεία, αναστρέψιμη όμως, μείωση των συγκεντρώσεων της LH και της οιστραδιόλης. Η LH μειώνεται κατά 84% σε διάστημα 10 ωρών, ενώ η οιστραδιόλη μειώνεται σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα σε διάστημα 36 ωρών μετά την χορήγηση. Η μέση διάρκεια της καταστολής της LH μέχρι να επιστρέψει στα φυσιολογικά της επίπεδα είναι περίπου 100 ώρες. Μετά από μία χορήγηση 0.25mg του Cetrorelix τα επίπεδα της LH και της FSH μειώνονται σε διάστημα 6 ωρών κατά 75% και 23% αντίστοιχα, όμως τα επίπεδά των γοναδοτροφινών και της οιστραδιόλης επιστρέφουν στα φυσιολογικά τους επίπεδα σε διάστημα 24 ωρών. Τέλος η κατασταλτική δράση του Cetrorelix έναντι των γοναδοτροφινών είναι δοσο-εξαρτώμενη και αναστρέψιμη.

Ο Ganirelix είναι διαθέσιμος για κλινική χρήση στην δόση των 0.25mg και χορηγείται υποδορίως. Ο μέσος χρόνος ημιζωής του είναι 16 ώρες και η βιοδιαθεσιμότητά του 91%. Η κατασταλτική του δράση έναντι των γοναδοτροφινών είναι δοσο-εξαρτώμενη και αναστρέψιμη. Σε μελέτη όπου χορηγήθηκε καθημερινώς για μία εβδομάδα, μετά από την έβδομη δόση τα επίπεδα της LH και της FSH μειώθηκαν κατά 74% και 32% αντίστοιχα. Τα επίπεδα της LH και της FSH έφτασαν στα χαμηλότερα επίπεδά τους μετά από 4 ώρες και 16 ώρες αντίστοιχα., ενώ η οιστραδιόλη μειώθηκε κατά 25% μέσα σε 16 ώρες μετά την χορήγηση του Ganirelix.

Η αποτελεσματικότητα του Abarelix στην καταστολή των στεροειδών του φύλου έχει μελετηθεί κυρίως σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. Προκαλεί άμεση

καταστολή των LH και FSH, με αποτέλεσμα την μείωση της τεστοστερόνης. Κυκλοφορεί για κλινική χρήση στη δόση των 100mg και χορηγείται ενδομυϊκά μόνο σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο του προστάτη. Ο μέσος χρόνος ημιζωής του είναι 10-13 ημέρες. Σε μια μελέτη όπου χορηγήθηκαν 100mg σε διάστημα 8 ημερών στο 76% των 209 ασθενών με καρκίνο του προστάτη επιτυγχάνθηκε μείωση της τεστοστερόνης σε επίπεδα κάτω των 50ng/dl. Αύξηση της τεστοστερόνης αποτράπηκε σε όλους τους ασθενείς και τα πολύ χαμηλά επίπεδά της διατηρήθηκαν με επαναλαμβανόμενη χορήγηση του Abarelix μηνιαίως για τρεις μήνες (18, 19, 36). (Πίνακας 2)

Parameter	Cetrorelix <sup>(16,40)</sup>			Ganirelix <sup>(19,20)</sup>	
	single dose 3mg	single dose 0.25mg	multiple dose 0.25mg	single dose 0.25mg	multiple dose 0.25mg
t <sub>max</sub> (h)	1.5 (0.5–2) <sup>a</sup>	1.0 (0.5–1.5) <sup>a</sup>	1.0 (0.5–2) <sup>a</sup>	1.1 ± 0.3 <sup>b</sup>	1.14 ± 0.23 <sup>b</sup>
t <sub>1/2</sub> (h)	62.8 (38.2–108) <sup>a</sup>	5.0 (2.4–48.8) <sup>a</sup>	20.6 (4.1–179.3) <sup>a</sup>	12.8 ± 4.3 <sup>b</sup>	16.23 ± 1.64 <sup>b</sup>
C <sub>max</sub> (μg/L)	28.5 (22.5, 36.2) <sup>c</sup>	4.97 (4.17, 5.92) <sup>c</sup>	6.42 (5.18, 7.96) <sup>c</sup>	14.8 ± 3.2 <sup>b</sup>	11.16 ± 2.41 <sup>b</sup>
AUC (μg • h/L)	536 (451, 636) <sup>c</sup>	31.4 (23.4, 42.0) <sup>c</sup>	44.5 (36.7, 54.2) <sup>c</sup>	94 ± 11 <sup>b,d</sup>	77.13 ± 9.75 <sup>b,e</sup>
Bioavailability (%)	85			91	

a Median (min-max).  
b Mean ± SD.  
c Mean values (95% CI).  
d AUC<sub>48h</sub>.  
e AUC<sub>24h</sub>.

AUC = area under the plasma concentration-time curve; C<sub>max</sub> = peak plasma concentration; t<sub>max</sub> = time to C<sub>max</sub>; t<sub>1/2</sub> = half-life.

Πίνακας 2. Φαρμακοκινητικά και φαρμακοδυναμικά χαρακτηριστικά των GnRH ανταγωνιστών Cetrorelix και Ganirelix (Griesinger G, Felberbaum RE, Schultze-Mosgau A, Diedrich K. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive techniques: are there clinical differences between agents? Drugs. 2004;64(6):563-75. Review).

### 3.5 Εφαρμογή των GnRH ανταγωνιστών στην ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών

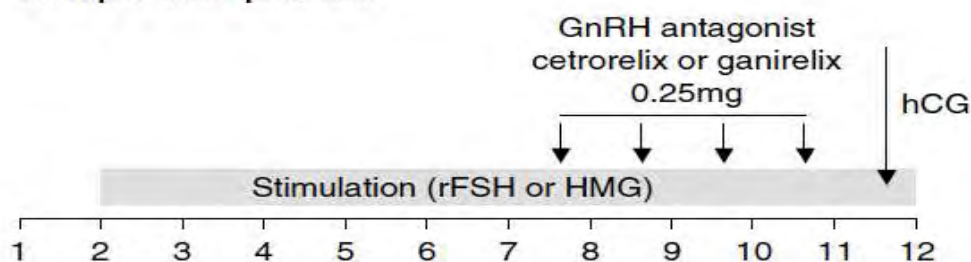
Οι GnRH ανταγωνιστές έχουν ευρεία εφαρμογή στην ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών. Μια σειρά μελετών πραγματοποιήθηκε προκειμένου να βρεθεί η ελάχιστη αποτελεσματική δόση των GnRH ανταγωνιστών για την πρόληψη της πρόωμης αιχμής της LH με αποδεκτά ποσοστά κύησης στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (κλινικές μελέτες φάσης II). Όπως αποδεικνύεται από τις μελέτες οι δόσεις αυτές είναι οι 0.25mg για το πολλαπλών δόσεων πρωτόκολλο και 3mg για το

μονής δόσης πρωτόκολλο (19). Οι πιο συχνές παρενέργειες που παρουσιάστηκαν είναι κόπωση, κεφαλαλγία και τοπικές αντιδράσεις στο σημείο χορήγησής τους (ερύθημα, κνησμό και αιμάτωμα) (19).

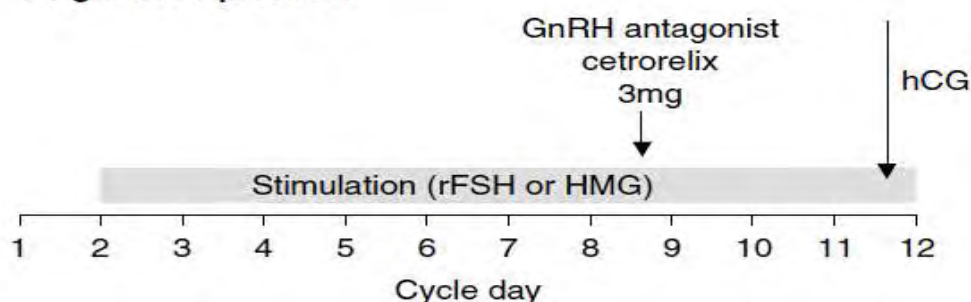
Τα δύο πρωτόκολλα στα οποία εφαρμόζονται είναι τα εξής:

1. Το πολλαπλών δόσεων (multiple dose) πρωτόκολλο (the Lubeck protocol): Μικρές δόσεις ανταγωνιστή (0.25mg) χορηγούνται υποδορίως καθημερινώς από την 5<sup>η</sup> ή την 6<sup>η</sup> ημέρα της διέγερσης με γοναδοτροφίνες μέχρι και την ημέρα χορήγησης της hCG.
2. Της μονής δόσης (single dose) πρωτόκολλο (the French protocol): Χορηγείται μία μόνο δόση ανταγωνιστή (3mg) υποδορίως την 7<sup>η</sup> ημέρα της διέγερσης των ωοθηκών με γοναδοτροφίνες. Στην περίπτωση που το ωοθυλάκιο δεν έχει αναπτυχθεί και είναι αναγκαία η καθυστέρηση της χορήγησης της hCG τότε χορηγείται επιπρόσθετη δόση ανταγωνιστή των 0.25mg καθημερινώς, τέσσερις ημέρες μετά από την πρώτη χορήγηση, μέχρι την ημέρα χορήγησης της hCG (18). (Εικόνα 8)

#### Multiple-dose protocol



#### Single-dose protocol



Εικόνα 8. Πρωτόκολλα των GnRH ανταγωνιστών στην ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών (Griesinger G, Felberbaum RE, Schultze-Mosgau A, Diedrich K. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive techniques: are there clinical differences between agents? *Drugs*. 2004;64(6):563-75. Review).



Μεταξύ των δύο πρωτοκόλλων δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα ποσοστά κύησης. Επιπροσθέτως η επιλογή χορήγησης των GnRH ανταγωνιστών την 6<sup>η</sup> ημέρα της διέγερσης των ωοθηκών (fixed protocol) δεν βασιζόταν σε επιστημονικά δεδομένα και κατά κανόνα η χορήγηση των GnRH ανταγωνιστών θα πρέπει να ξεκινά όταν παρατηρείται ανάπτυξη ωοθυλακίων ή/και όταν η παραγόμενη οιστραδιόλη από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια μπορεί να προκαλέσει πρόωμη αιχμή της LH μέσω θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Επομένως αναπτύχθηκε η ιδέα του flexible protocol των GnRH ανταγωνιστών όπου η χορήγησή τους ξεκινά όταν παρατηρείται διάμετρος ωοθυλακίου 14-15mm. Αν και η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική, όλες οι μελέτες δείχνουν μικρότερα ποσοστά κύησης στο flexible protocol σε σύγκριση με το fixed protocol (31).

Η χρησιμοποίηση των GnRH ανταγωνιστών στην εξωσωματική γονιμοποίηση έχει προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα:

1. Η πρόληψη των πρόωμων αιχμών της LH επιτυγχάνεται ευκολότερα και σε σύντομο χρονικό διάστημα, με ποσοστά αποτυχίας κάτω του 2%. Οι GnRH ανταγωνιστές δρουν σε διάστημα ωρών από τη στιγμή της χορήγησής τους. Αντιθέτως οι GnRH αγωνιστές χρειάζονται δύο εβδομάδες για επιτύχουν την απευαισθητοποίηση της υπόφυσης.
2. Οι GnRH ανταγωνιστές δεν προκαλούν το αρχικό flare up effect των GnRH αγωνιστών.
3. Δεν παρατηρούνται παρενέργειες λόγω υποοιστρογοναιμίας, π.χ. εξάψεις, όπως παρατηρούνται στους GnRH αγωνιστές.
4. Η συνολική ποσότητα των γοναδοτροφινών που χρησιμοποιείται είναι λιγότερη, με αποτέλεσμα το οικονομικό όφελος.
5. Η διάρκεια ενός κύκλου θεραπείας είναι μικρότερη σε σχέση με αυτή των GnRH αγωνιστών.
6. Ποσοστά γονιμοποίησης πάνω από 60% και ποσοστά κύησης ανά εμβρυομεταφορά πάνω από 30% είναι ελπιδοφόρα.
7. Εξαιτίας της διατήρησης της ανταπόκρισης της υπόφυσης στην GnRH σε κύκλους θεραπείας με GnRH ανταγωνιστές, GnRH αγωνιστές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την τελική ωρίμανση του ωαρίου έναντι της hCG σε GnRH ανταγωνιστών πρωτόκολλα ελεγχόμενης διέγερσης των ωοθηκών. Τα ποσοστά κύησης όμως είναι μειωμένα σε σύγκριση με την χορήγηση

της hCG για την τελική ωρίμανση του ωαρίου, όπως επίσης και τα ποσοστά εκδήλωσης του συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών (OHSS) (31, 37).

Παρόλα αυτά η χρησιμοποίηση των GnRH ανταγωνιστών είναι μια καινούργια προσέγγιση στην εξωσωματική γονιμοποίηση και περισσότερες γνώσεις χρειάζονται για την ορθότερη χρήση τους. Τα πρωτόκολλα των GnRH ανταγωνιστών είναι λιγότερα ευέλικτα σε σύγκριση με το μακρύ πρωτόκολλο των GnRH αγωνιστών (18, 31).

Οι περισσότερες συγκριτικές μελέτες αναφέρουν μικρή μείωση των ποσοστών εγκυμοσύνης στους κύκλους θεραπείας με GnRH ανταγωνιστές σε σύγκριση με αυτών με GnRH αγωνιστών (31, 38). Βέβαια υπάρχουν και συγκριτικές μελέτες και μεταanalύσεις όπου υποδεικνύουν ότι τα ποσοστά κύησης δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των αναλόγων της GnRH (39, 40). Επιπροσθέτως σε συγκριτικές μελέτες φαίνεται ότι το ποσοστό εκδήλωσης του συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών (OHSS) να είναι μειωμένο στους κύκλους θεραπείας με GnRH ανταγωνιστές σε σύγκριση με αυτών με GnRH αγωνιστές (38, 40).

Ωστόσο, σε πιο πρόσφατες κλινικές μελέτες, έχει αμφισβητηθεί η ικανότητα των GnRH ανταγωνιστών να μειώνουν την έκκριση της LH. Πιο συγκεκριμένα σε μία κλινική μελέτη όπου χορηγήθηκαν σε 107 ασθενείς, γυναίκες, κιτρική κλομιφαίνη, η οποία έχει αντι-οιστρογονική δράση, σε συνδυασμό με το πολλαπλών δόσεων πρωτόκολλο του GnRH ανταγωνιστή (Cetrorelix) και γοναδοτροφίνες, hMG ή rhFSH, για επίτευξη ήπιας ωοθηκικής διέγερσης, παρατηρήθηκαν πρώιμες εκκριτικές αιχμές της LH (ορίζεται ως μέτρηση της LH >10 IU/l και της προγεστερόνης >1 ng/ml) σε συνολικό ποσοστό 21,5%, το οποίο δεν είναι αποδεκτό για την κλινική πρακτική (41). Το αυξημένο αυτό ποσοστό των πρώιμων εκκριτικών αιχμών της LH μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι η επιπλέον προσθήκη της κιτρικής κλομιφαίνης οδηγεί σε αυξημένη έκκριση της ενδογενούς παραγόμενης, από τον υποθάλαμο, GnRH ή αυξάνει την ευαισθησία της υπόφυσης στην GnRH. Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι δεν επιτυγχάνεται αποτελεσματική απευαισθητοποίηση της υπόφυσης από τον GnRH ανταγωνιστή (Cetrorelix) στην δοσολογία των 0.25mg/ημέρα και ενδεχομένως αύξησή της σε 0.5mg/ημέρα να συνοδεύεται από μείωση των ποσοστών των πρώιμων αιχμών της LH (41).

Επιπρόσθετα, σε μία άλλη κλινική μελέτη χορηγήθηκε ο GnRH ανταγωνιστής Ganirelix σε 73 γυναίκες, οι οποίες έλαβαν για την διέγερση των ωοθηκών σε

κύκλους θεραπείας IVF rhFSH, από την 7<sup>η</sup> μέρα του γεννητικού τους κύκλου μέχρι την ημέρα χορήγησης της hCG (42). Στις 37 γυναίκες χορηγήθηκε καθημερινώς (0.25mg/ημέρα) (ομάδα 1) και στις 36 γυναίκες χορηγήθηκε μέρα παρά μέρα (0.25mg) (ομάδα 2). Τα ποσοστά εκδήλωσης πρώιμου κύματος της LH (>10 IU/l) ήταν 35% για την ομάδα 1 και 39% για την ομάδα 2, ενώ ωχρινοποίηση (προγεστερόνη >2ng/ml) παρατηρήθηκε σε μια γυναίκα. Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι η αποτελεσματικότητα του Ganirelix έναντι της εκδήλωσης πρώιμου κύματος της LH μπορεί να είναι ίδια είτε χορηγείται καθημερινώς είτε μέρα παρά μέρα. Τα αυξημένα ποσοστά όμως των πρώιμων αιχμών της LH υποδεικνύουν ότι ο GnRH ανταγωνιστής στην δοσολογία των 0.25mg/ημέρα μπορεί να μην είναι αποτελεσματικός (42).

Έχει θεωρηθεί ότι ο GnSAF είναι υπεύθυνος για την άμβλυνση του κύματος της LH. Στην παραπάνω μελέτη επειδή ήταν πιο συχνή η ωχρινοποίηση που ακολουθούσε την πρώιμη αιχμή της LH πριν την χορήγηση του GnRH ανταγωνιστή είναι πιθανόν λόγω συνεργιστικής δράσης του GnRH ανταγωνιστή και του GnSAF, το κύμα της LH ή να καταστέλλεται ή να μην είναι ικανό να προκαλέσει ωχρινοποίηση στην πλειονότητα των γυναικών (42).

Τέλος, μία κλινική μελέτη διερεύνησε την ικανότητα του GnRH ανταγωνιστή Ganirelix να αναστέλλει το θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης των εξωγενώς χορηγηθέντων οιστρογόνων σε 8 γυναίκες με φυσιολογικό γεννητικό κύκλο. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης υποδεικνύουν ότι ο GnRH ανταγωνιστής Ganirelix, στις δόσεις που χρησιμοποιούνται τη δεδομένη στιγμή στην εξωσωματική γονιμοποίηση (0.25mg/ημέρα), δεν είχε την δυνατότητα να μπλοκάρει το θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης των εξωγενώς χορηγηθέντων οιστρογόνων με αποτέλεσμα την εκδήλωση πρώιμης αιχμής της LH (43). Μια πιθανή εξήγηση της ανικανότητας αυτής του Ganirelix είναι τα επίπεδά του προς το τέλος του 24ώρου μετά την χορήγησης του να ελαττώνονται, οπότε εκείνο το χρονικό διάστημα μέχρι να χορηγηθεί η επόμενη δόση του Ganirelix τα οιστρογόνα να έχουν την δυνατότητα να δράσουν στην υπόφυση μέσω θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Άλλη πιθανή εξήγηση είναι τα οιστρογόνα να έχουν την δυνατότητα να προκαλούν εκκριτική αιχμή της LH δρώντας στην υπόφυση ανεξάρτητα από τον GnRH υποδοχέα, όπως έχει προταθεί στους πθήκους. Πιθανότατα υψηλότερες δόσεις του Ganirelix να ήταν πιο αποτελεσματικές έναντι της εκδήλωσης πρώιμης αιχμής της LH (43).

Στους κύκλους θεραπείας της εξωσωματικής γονιμοποίησης που έχει χρησιμοποιηθεί ο Ganirelix παρατηρήθηκαν μικρές αυξήσεις της LH όχι όμως αυξήσεις του τύπου της εκκριτικής αιχμής της LH, όπως στην συγκεκριμένη μελέτη. Αυτό υποδεικνύει ότι ο ίδιος ο ανταγωνιστής έχει διαφορετική συμπεριφορά κατά την διάρκεια της διέγερσης των ωοθηκών και στους φυσιολογικούς κύκλους, χωρίς διέγερση. Η πιο πιθανή εξήγηση είναι ότι κατά την διέγερση των ωοθηκών υπερεκκρίνονται όχι μόνο τα οιστρογόνα αλλά και ο παράγοντας GnSAF. Οπότε είναι πιθανόν στην πρόληψη της εκδήλωσης πρώιμης αιχμής της LH να συμμετέχουν και ο GnRH ανταγωνιστής και ο GnSAF (43).

Ένα άλλο αξιοσημείωτο εύρημα της μελέτης ήταν ότι τα επίπεδα της LH δεν μειώθηκαν περισσότερο με τον GnRH ανταγωνιστή, όταν χορηγήθηκε μαζί με τα οιστρογόνα, από ότι μειώθηκαν μόνο με τα εξωγενώς χορηγηθέντα οιστρογόνα. Κατά την διάρκεια της διέγερσης των ωοθηκών στην IVF τα επίπεδα της LH μειώνονται σημαντικά και δεν παρατηρείται περαιτέρω μείωσή τους μετά την χορήγηση του GnRH ανταγωνιστή. Είναι φανερό ότι οι συγκεκριμένοι ανταγωνιστές, όπως ο Ganirelix, συμμετέχουν εν μέρει στην τροποποίηση της ενδοκρινολογίας στους κύκλους διέγερσης των ωοθηκών, ενώ η διαδικασία της υπερδιέγερσης αυτή καθ' αυτή παίζει τον πιο σημαντικό ρόλο (43).

#### 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας βρίσκεται κάτω από την επίδραση μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, που ρυθμίζουν την λειτουργία του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκη, με αποτέλεσμα την ωρίμανση ενός ωοθυλακίου και την απελευθέρωση ώριμου ωαρίου. Τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη επηρεάζουν αρνητικά και θετικά την έκκριση των GnRH, LH και FSH μέσω τέτοιων μηχανισμών προκαλώντας τις διακυμάνσεις τους στον ορό κατά την διάρκεια του γεννητικού κύκλου. Με την κατανόηση του τρόπου αλληλεπίδρασης μεταξύ των οιστρογόνων, της προγεστερόνης, των γοναδοτροφινών και της GnRH πραγματοποιήθηκαν σημαντικές εξελίξεις στο πεδίο της εξωσωματικής γονιμοποίησης.

Η εφεύρεση των GnRH αναλόγων, αγωνιστών και ανταγωνιστών, συνέβαλε καταλυτικά στην αύξηση των ποσοστών επιτυχίας στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή δρώντας στην υπόφυση, προκαλώντας αναστολή της έκκρισης των γοναδοτροφινών και προλαμβάνοντας την πρόωπη αιχμή της LH. Από το 2001 είναι διαθέσιμοι για κλινική χρήση η τρίτη γενιά των GnRH ανταγωνιστών με πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα χωρίς τις παρενέργειες των GnRH αγωνιστών. Πληθώρα συγκριτικών μελετών έχουν δημοσιευτεί, όπως και μεταanalύσεις, όσον αφορά την αποτελεσματικότητα και τα ποσοστά επιτυχίας των GnRH ανταγωνιστών και GnRH αγωνιστών. Σε πολλές όμως από αυτές τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα, ως εκ τούτου να μην υπάρχει ομοφωνία και σχεδίαση κοινής πρακτικής για την χρησιμοποίηση των GnRH αναλόγων στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.

Επιπροσθέτως ένας άλλος τομέας που θα πρέπει να διερευνηθεί είναι η επίδραση των GnRH ανταγωνιστών στο ενδομήτριο, στην ωοθήκη και στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων και των εμβρύων. Ακόμη πρέπει να μελετηθεί η αποτελεσματικότητά τους και σε άλλες παθήσεις όπως είναι τα ινομώματα, η υπερπλασία του προστάτη, η ενδομητρίωση και διάφοροι ορμονο-εξαρτώμενοι όγκοι, ώστε στο μέλλον να αποτελούν εναλλακτική θεραπεία αυτών. Τέλος τα τελευταία χρόνια εφευρέθηκαν η μη-πεπτιδικοί GnRH ανταγωνιστές, οι οποίοι βρίσκονται στο στάδιο των κλινικών μελετών, έτσι ώστε στο μέλλον να συμβάλλουν στη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Γεωργία Μπητοπούλου –Μαράτου, Βασική Φυσιολογία, 1984.
2. Lippincott Williams & Wikins, Medical Physiology, Daniel E. Peavy, Endocrine Physiology, Endocrine Control Mechanisms, chapter 31, 2004.
3. Φερτάκης Αρ.. Παθολογική Φυσιολογία, 1998.
4. Messinis IE. Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications. Hum Reprod Update. 2006 Sep-Oct;12(5):557-71. Epub 2006 May 3. Review.
5. Leslie J. DeGroot, J.Larry Jameson, Endocrinology, Fifth Edition, p: 2687-2695, 2005.
6. Leslie J. DeGroot, J.Larry Jameson, Endocrinology, Fifth Edition, p: 2649-2652, 2005.
7. Messinis I.E., Επιτομή Μαιευτική και Γυναικολογία, 2005.
8. Christian CA, Moenter SM. The neurobiology of preovulatory and estradiol-induced gonadotropin-releasing hormone surges. Endocr Rev. 2010 Aug;31(4):544-77. Epub 2010 Mar 17. Review.
9. Dafopoulos K, Kotsovassilis CG, Milingos S, Kallitsaris A, Galazios G, Zintzaras E, Sotiros P, Messinis IE. Changes in pituitary sensitivity to GnRH in estrogen-treated post-menopausal women: evidence that gonadotrophin surge attenuating factor plays a physiological role. Hum Reprod. 2004 Sep;19(9):1985-92. Epub 2004 Jun 30.
10. Shaw ND, Histed SN, Srouji SS, Yang J, Lee H, Hall JE. Estrogen negative feedback on gonadotropin secretion: evidence for a direct pituitary effect in women. J Clin Endocrinol Metab. 2010 Apr;95(4):1955-61. Epub 2010 Feb 4.
11. Thackray VG, Hunnicutt JL, Memon AK, Ghochani Y, Mellon PL. Progesterone Inhibits basal and gonadotropin-releasing hormone induction of luteinizing hormone beta-subunit gene expression. Endocrinology. 2009 May;150(5):2395-403. Epub 2008 Dec 23.
12. Leslie J. DeGroot, J.Larry Jameson, Endocrinology, Fifth Edition, p: 2654, 2005.
13. Herbison AE. Multimodal influence of estrogen upon gonadotropin-releasing hormone neurons. Endocr Rev. 1998 Jun;19(3):302-30. Review
14. Chappell PE, Goodall CP, Tonsfeldt KJ, White RS, Bredeweg E, Latham KL. Modulation of gonadotrophin-releasing hormone secretion by an endogenous circadian clock. J Neuroendocrinol. 2009 Mar;21(4):339-45. Review.
15. Sleiter N, Pang Y, Park C, Horton TH, Dong J, Thomas P, Levine JE. Progesterone receptor A (PRA) and PRB-independent effects of progesterone on gonadotropin-releasing hormone release. Endocrinology. 2009 Aug;150(8):3833-44. Epub 2009 May 7.
16. Kumanov P, Nandipati KC, Tomova A, Robeva R, Agarwal A. Significance of inhibin in reproductive pathophysiology and current clinical applications. Reprod Biomed Online. 2005 Jun;10(6):786-812. Review.

17. Dafopoulos K, Mademtzis I, Vanakara P, Kallitsaris A, Stamatiou G, Kotsovassilis C, Messinis IE. Evidence that termination of the estradiol-induced luteinizing hormone surge in women is regulated by ovarian factors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Feb;91(2):641-5. Epub 2005 Dec 6.
18. Coccia ME, Comparetto C, Bracco GL, Scarselli G. GnRH antagonists. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004 Jul 1;115 Suppl 1:S44-56. Review.
19. Griesinger G, Felberbaum RE, Schultze-Mosgau A, Diedrich K. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive techniques: are there clinical differences between agents? *Drugs.* 2004;64(6):563-75. Review.
20. Elter K, Nelson LR. Use of third generation gonadotropin-releasing hormone antagonists in vitro fertilization-embryo transfer: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2001 Sep;56(9):576-88. Review.
21. Tarlatzis BC, Bili HN. Gonadotropin-releasing hormone antagonists: impact of IVF practice and potential non-assisted reproductive technology applications. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2003 Jun;15(3):259-64. Review.
22. Ron-El R, Raziell A, Schachter M, Strassburger D, Kasterstein E, Friedler S. Induction of ovulation after gnRH antagonists. *Hum Reprod Update.* 2000 Jul-Aug;6(4):318-21. Review.
23. European and Middle East Orgalutran Study Group. Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surges in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod.* 2001 Apr;16(4):644-51
24. Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation. *Hum Reprod Update.* 2002 May-Jun;8(3):279-90. Review.
25. Hayden C. GnRH analogues: applications in assisted reproductive techniques. *Eur J Endocrinol.* 2008 Dec;159 Suppl 1:S17-25. Epub 2008 Oct 10. Review.
26. Huirne JA, Lambalk CB. Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. *Lancet.* 2001 Nov 24;358(9295):1793-803. Review.
27. Millar RP, Lu ZL, Pawson AJ, Flanagan CA, Morgan K, Maudsley SR. Gonadotropin-releasing hormone receptors. *Endocr Rev.* 2004 Apr;25(2):235-75. Review.
28. Leslie J. DeGroot, J.Larry Jameson, *Endocrinology*, Fifth Edition, p: 2650-2651, 2005.
29. Millar RP. GnRHs and GnRH receptors. *Anim Reprod Sci.* 2005 Aug;88(1-2):5-28. Review.
30. Kiesel LA, Rody A, Greb RR, Szilágyi A. Clinical use of GnRH analogues. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002 Jun;56(6):677-87. Review.
31. Tarlatzis BC, Fauser BC, Kolibianakis EM, Diedrich K, Rombauts L, Devroey P. GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod Update.* 2006 Jul-Aug;12(4):333-40. Epub 2006 Mar 27. Review. Erratum in: *Hum Reprod Update.* 2006 Nov-Dec;12(6):797. Rombauts, L [added].
32. Taylor JE, Miller BT, Gray KD, Scott RT Jr, Catherino WH, Segars JH. The mechanism responsible for the supraphysiologic gonadotropin surge in females

- treated with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist and primed with GnRH antagonist. *Fertil Steril*. 2010 Mar 15;93(5):1668-75. Epub 2009 Feb 6.
33. Simon C, Oberyé J, Bellver J, Vidal C, Bosch E, Horcajadas JA, Murphy C, Adams S, Riesewijk A, Mannaerts B, Pellicer A. Similar endometrial development in oocyte donors treated with either high- or standard-dose GnRH antagonist compared to treatment with a GnRH agonist or in natural cycles. *Hum Reprod*. 2005 Dec;20(12):3318-27. Epub 2005 Aug 5.
  34. Borm G, Mannaerts B. Treatment with the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group. *Hum Reprod*. 2000 Jul;15(7):1490-8. Erratum in: *Hum Reprod* 2000 Aug;15(8):1877.
  35. Millar RP, Zhu YF, Chen C, Struthers RS. Progress towards the development of non-peptide orally-active gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonists: therapeutic implications. *Br Med Bull*. 2000;56(3):761-72. Review.
  36. Griesinger G, Felberbaum R, Diedrich K. GnRH-antagonists in reproductive medicine. *Arch Gynecol Obstet*. 2005 Dec;273(2):71-8. Epub 2005 Jul 1. Review.
  37. Griesinger G, Diedrich K, Devroey P, Kolibianakis EM. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2006 Mar-Apr;12(2):159-68. Epub 2005 Oct 27. Review.
  38. Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online*. 2007 May;14(5):640-9. Review.
  39. Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis BC, Devroey P, Diedrich K, Griesinger G. Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2006 Nov-Dec;12(6):651-71. Epub 2006 Aug 18. Review.
  40. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011 May 11;(5):CD001750. Review.
  41. Engel JB, Ludwig M, Felberbaum R, Albano C, Devroey P, Diedrich K. Use of cetorelix in combination with clomiphene citrate and gonadotrophins: a suitable approach to 'friendly IVF'? *Hum Reprod*. 2002 Aug;17(8):2022-6.
  42. Messinis IE, Loutradis D, Domali E, Kotsovassilis CP, Papastergiopoulou L, Kallitsaris A, Drakakis P, Dafopoulos K, Milingos S. Alternate day and daily administration of GnRH antagonist may prevent premature luteinization to a similar extent during FSH treatment. *Hum Reprod*. 2005 Nov;20(11):3192-7. Epub 2005 Jul 21.
  43. Messinis IE, Vanakara P, Zavos A, Verikouki C, Georgoulas P, Dafopoulos K. Failure of the GnRH antagonist ganirelix to block the positive feedback effect of



exogenous estrogen in normal women. Fertil Steril. 2010 Sep;94(4):1554-6. Epub 2010 Feb 10.